

Aus der II. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln

Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll

STIMULATION PERIPHERER LYMPHOCYTEN DURCH MONONUCLEOSESERUM IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Michael Harnoss
Berlin

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549022_0025

Aus der II. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln

Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll

STIMULATION PERIPHERER LYMPHOCYTEN DURCH MONONUCLEOSESERUM IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Michael Harnoss
Berlin

Referent: Prof.Dr.med.Irene Boll
Korreferent: Prof.Dr.H.J.Kirstaedter

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fach-
bereiche der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 25.1.1977

Meinen Eltern gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	EINLEITUNG	Seite
	1. Infektiöse Mononucleose	1
	2. Die atypische mononucleäre Zelle des Morbis Pfeiffer	2
	3. Phytohämagglutinin	3
	4. Spezifische und unspezifische Stimulation	3
	5. Phytohämagglutinin und Mononucleosenserum im Vergleich	4
II.	FRAGESTELLUNG	5
III.	MATERIAL UND METHODIK	7
	1. Die Leukocytenkultur	7
	2. Die Serumbereitung	8
	3. Versuchsanordnung	9
	4. Aufarbeitung der Kulturen	9
	5. Auswertung der Präparate	10
IV.	ERGEBNISSE	11
	1. Zelldifferenzierung	11
	2. Darstellung der Graphiken und Tabellen	17
	3. Die Signifikanz	20
	4. Beschreibung der Versuche im einzelnen	22
	5. Prozentuale Verteilung der Zellen in den Kulturen	42
	6. Zusammenfassung der Ergebnisse	46
V.	DISKUSSION	48
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	57
VII.	LITERATUR	58

I. EINLEITUNG

1. Infektiöse Mononucleose

E. PFEIFFER beschrieb 1889 als erster die Merkmale einer Infektionskrankheit, die bevorzugt bei jüngeren Patienten beobachtet werden konnte - das später nach ihm benannte Pfeiffersche Drüsenfieber: Nach einer kurzen Inkubationszeit von 7-12 Tagen und zweitägigem Prodromalstadium mit allgemeinem Unwohlsein, manifestiert sich die Erkrankung bei akutem Verlauf durch das typische Fieber, das nach 3-4 Tagen seinen Höhepunkt erreicht. Lymphknotenschwellung und ein purpuraähnliches Enanthem im Bereich des weichen Gaumens sind typische Merkmale. Zu 80% sind Kinder und Jugendliche betroffen; eine hauptsächlich orale Infektübertragung wird diskutiert (EVANS 1972).

Von klinischer Bedeutung ist der Nachweis heterophiler Antikörper, wie er mit der Hanganutziu-Deicher-Reaktion, auch Paul-Bunnell-Test genannt, möglich ist (PAUL, BUNNEL, 1932): Das Serum Erkrankter ist in der Lage, Hammelerythrocyten zu agglutinieren. Als beweisend wird ein Titer von 1:256 angesehen. Für die Diagnose sprechen auch Titer schwankungen im Verlauf der Erkrankung.

Mikroskopisch läßt sich eine starke Proliferation des gesamten reticulo-endothelialen Systems nachweisen, wobei Lymphknoten, Milz und lymphatischer Rachenring fast immer betroffen sind. SPRUNT und EVANS wiesen schon 1920 auf die Veränderungen des Blutbildes hin, die bei dieser Erkrankung regelmäßig beobachtet werden können. Sie beschrieben atypische mononucleäre Zellen und prägten danach den Begriff der infektiösen Mononucleose.

Als ursächlich für diese Erkrankung wird nach neueren Forschungen von HENLE u. HENLE (1969) das Barr-Epsteinsche Virus angesehen, das erstmals aus dem Burkitt-Tumor (epidemisches Lymphosarkom) isoliert wurde (EPSTEIN et al. 1964). Es handelt sich dabei um ein DNS-Virus, das zur Herpes-Gruppe gehört (DAMESHEK 1968). Nach neueren Forschungen

von DIEHL, HENLE und KOHN, 1968, besteht die Vermutung, daß das gleiche Virus für die Entstehung zweier unterschiedlicher Erkrankungen als ursächlich betrachtet werden kann: das Burkitt-Lymphom und die Mononucleose. Unbekannte exogene Faktoren bewirken ein streng geographisches Verteilungsmuster der beiden Krankheiten. Das Lymphom wird fast ausschließlich in warmen, tropischen Regionen beobachtet, der Morbus Pfeiffer ist nur in kühleren Gegenden bekannt.

2. Die atypischen mononucleären Zellen des Morbus Pfeiffer

Die atypischen mononucleären Zellen des Blutbildes wurden 1923 von DOWNEY und MC KINLEY untersucht und als Differenzierungsform der Lymphocyten klassifiziert. Die großen entrundeten grobmaschig strukturierten Kerne, die ein grau-blauer, geschummerter Cytoplasmarand umschließt, geben der atypischen mononucleären Zelle eine lympho- wie auch monocytäre Morphologie. NYFELD (1932) betrachtete sie als Übergangsform zwischen Lymphocyten und Monocyten. So ist es auch zu erklären, daß sie als Lymphomonocyten bezeichnet wurden. BEGEMANN und HEILMEYER (1963) wiesen ebenfalls auf morphologische Ähnlichkeit zu den Monocyten und großen Lymphocyten hin. Die fast ausnahmslos negative Peroxidase-reaktion gibt der Verbindung zu den Monocyten aber eher formalen Charakter. Als typisch erwähnt BEGEMANN das Auftreten zytoplasmatischer Vakuolen, sogenannter fenestrated forms oder DOWNEY-Zellen.

In der jüngeren Literatur wird überwiegend die Meinung vertreten, daß sich die Lymphoidzellen vom lymphatischen System herleiten. Es finden sich Parallelen zwischen der Lymphoidzelle und dem durch Phytohämagglutinin stimulierten Lymphocyten (BOCK, WILMS, WILMANNS, 1970). Elektronenmikroskopische Untersuchungen von INMAN und COOPER (1963) stellten eine auffällige morphologische Übereinstimmung der atypischen mononucleären Zelle mit den durch Phytohämagglutinin stimulierten Immunoblasten fest.

F.W.SCHINZ (1974) kommt im Rahmen seiner cytochemischen Untersuchungen an kultivierten Mononucleose-Blutzellen zu dem Ergebnis, daß eine Beziehung der atypischen mononucleären Zelle zum monocytären System auszuschließen ist. Deutliche Unterschiede zeigten sich bei der α -Naphthylacetat-Esterase, sauren Phosphatasen und PAS-Reaktion. Zu gleichartigen Ergebnissen führten cytochemische Untersuchungen von PIETSCHMANN u. ROLLEDER (1972).

3. Phytohämagglutinin

Phytohämagglutinin ist ein Mucoprotein, das 1905 zum ersten Mal aus der Bohne *Phaseolus vulgaris* extrahiert wurde. GODDARD und MENDEL agglutinierten 1929 mit dieser Substanz menschliches Blut und bewirkten so die vollständige Eliminierung aller roten Zellen. Man nutzte diesen Effekt zur Gewinnung von Leukocytenkonzentraten.

HUNGERFORD und NOWELL bemerkten 1959 in den verbliebenen Zellkonzentraten unter Einwirkung von Phytohämagglutinin eine atypische Veränderung der Mono- und besonders der Lymphocyten. Kern und Cytoplasma vergrößerten sich und zeigten aufgelockerte Struktur, die Gesamtkonfiguration wirkte blastoid. Die neu entstandenen Zellen wurden Immunoblasten oder Phytozellen genannt. Quantität wie auch Qualität dieser durch Phytohämagglutinin induzierten Transformation der Lymphocyten sind die entscheidenden Kriterien der Auswertung (HUBER, BRAUNSTEINER, 1966). Die Bedeutung der Phytohämagglutinin-Kultur ist darin zu sehen, daß unter reproduzierbaren Versuchsbedingungen in vitro die immunologische Reaktion von Lymphocyten beobachtet werden kann.

4. Spezifische und unspezifische Stimulation

Eine Reihe weiterer Substanzen wurde gefunden, die in vitro eine Transformation der Lymphocyten bewirken. Dabei konnten zwei unterschiedliche Reaktionsformen beobachtet werden: die spezifische und die unspezifische Sti-

mulation (LING, 1968). Bei der als spezifisch bezeichneten Stimulationsform ist eine vorherige Sensibilisierung des Lymphocytenspenders mit dem entsprechenden Antigen erforderlich. In den zu Blasten transformierten Lymphocyten ist eine Proteinsynthese und die Bildung von spezifischen korrespondierenden Antikörpern nachweisbar (LING and HUSBAND 1964). In diesem Zusammenhang wären als antigenwirksam zu nennen:

Tuberkulin, Diphtherie- und Tetanustoxoid,
Keuchhusten-, Poliomyelitis, Pockenvakzine.

Hingegen lösen

Staphylokokkenexotoxin, Streptolysin S
und Phytohämagglutinin

eine sogenannte unspezifische Stimulation ohne vorangegangenen Kontakt mit dem Agens aus. Es kommt nach durchschnittlich 3-4 Tagen in den Kulturen zu einer Immunoblastenbildung von bis zu 60% der ausgezählten Zellen, während bei der spezifischen Transformationsform die Blastenbildung meist um einen Tag verzögert ist und bei Werten zwischen 5 und 25% liegt (OPPENHEIM, 1968).

5. Phytohämagglutinin und Mononucleosenserum im Vergleich

F.W.SCHINZ fand bei seinen Untersuchungen an Lymphocyten von Patienten mit infektiöser Mononukleose, daß sich in den Kulturen spontan, ohne weiteren Stimulus und offensichtlich aus den typischen Lymphoidzellen, Immunoblasten entwickeln. Hinweise auf die Ähnlichkeit der atypischen mononucleären Zellen mit den Immunoblasten, wie sie in der mit Phytohämagglutinin stimulierten Kultur auftreten, geben schon PEARMAIN und LYCETTE (1963). Die beim Morbus Pfeiffer in vivo festgestellte Transformation der Lymphocyten zu Lymphoidzellen scheint nur eine Vorstufe auf dem Weg zum Immunoblasten zu sein, denn in den Kulturen Mononucleosekranker konnte dieser bereits nach wenigen Tagen festgestellt werden (SCHINZ, 1974). Der Morbus Pfeiffer beeinflußt also in vivo die Morphologie und damit auch das Wesen der Lymphocyten in der Art, wie es bislang in vitro nur von Phytohämagglutinin und anderen unspezifi-

schen Stimulantien bekannt ist. Wenn Phytohämagglutinin in vitro und das Epstein Barr Virus in vivo eine gleiche Wirkung auf Lymphocyten ausüben, so liegt der Gedanke nahe, ihren Wirkungsort auszutauschen. Dies müßte die Frage beantworten, ob die bekannte immunologische Antwort der Lymphocyten auf Phytohämagglutinin in vitro dem veränderten Bild der Lymphocyten beim Morbus Pfeiffer in vivo vergleichbar ist. Die Anwendung und Erprobung von Phytohämagglutinin in vivo mußte durch seine hohe Toxizität und seine Wirkung auf die Agglutination der roten Blutkörperchen begrenzt bleiben. Trotzdem konnte ASTALDI et al. (1966) bei lokalen Injektionen an freiwilligen Versuchspersonen intra- und subcutan Bildung von Immunoblasten nachweisen. GAMBLE fand 1966 im Tierversuch, daß die Bildung von Antikörpern auf einen antigenen Reiz artfremder Erythrocyten bei vorangegangener Applikation von Phytohämagglutinin gesteigert ist, wenn es von seiner die Erythrocyten agglutinierenden Wirkung gereinigt ist. SPREAFICO und LERNER (1967) stellten unter gleichen Versuchsbedingungen bei der Maus mit nicht gereinigtem Phytohämagglutinin eher eine Ver-ringerung der immunologischen Antwort fest. Lymphoidzellen konnten jedoch beobachtet werden.

Der umgekehrte Versuchsansatz, nämlich die Wirkung des Mononucleoserserums auf normale Leukocyten in vitro zu erproben, ist u.W. noch nicht durchgeführt worden und deswegen das Ziel dieser Arbeit.

II. FRAGESTELLUNG:

Bewirkt das Agens der Mononucleose eine Proliferation der Lymphocyten in vitro?

Läßt sich die Wirkung durch Zusatz von Mononucleoserserum auf normale Lymphocyten in vitro reproduzieren?

Kommt es wie bei den Versuchen von F.W.SCHINZ zur Entstehung von blastoiden Zellen lymphatischen Ursprungs wie sie Phytohämagglutinin in vitro zu induzieren vermag?

Entspricht also die Wirkung der Mononucleose auf die Morphologie der Lymphocyten der des Phytohämagglutinins?

Bisher kann es noch nicht als endgültig bewiesen gelten, welches Virus den Morbus Pfeiffer auslöst. Es ist unbekannt, welche Substanz die Proliferation der Lymphocyten zu Lymphoidzellen veranlaßt. Deswegen konnten wir kein Agens wie das Mucoprotein aus Phaseolus vulgaris in der Phytokultur den Versuchskulturen beigeben. Da zu vermuten ist, daß der mitogene transformierende Faktor der Mononucleose im peripheren Blut als freies, nicht zellgebundenes Antigen vorkommt, verwendeten wir Serum als Stimulans.

Von Patienten, die die klinischen Zeichen eines Morbus Pfeiffer und einen positiven Paul Bunnell-Test aufwiesen, wurde Serum gewonnen und auf Leukocytenkulturen anderer Personen übertragen, die alle im Blut vorkommenden Zellen enthielten, mit Ausnahme der Erythrocyten. Dies nannten wir den Pfeifferserumversuch.

In Erwartung einer möglichen Transformation der Lymphocyten durch Mononucleoseserum mußte eine weitere Frage gestellt werden: Ist die Transformation der Lymphocyten auf den Zusatz von Mononucleoseserum zurückzuführen oder spielt hier ein anderer Faktor eine Rolle, der in Versuchsbedingungen und Versuchsanordnung zu suchen ist?

Um das Verhalten der Lymphocyten unter den gegebenen Kulturbedingungen ohne Einfluß exogener Faktoren zu ermitteln, wurde gleichzeitig eine Kultur ohne Pfeifferserumzusatz von denselben Probanden angelegt. Wir nannten dies den Kontrollversuch.

Hinweise in der Literatur auf Stimulation bei sogenannten gemischten Leukocyten, d.h. Kulturen bestehend aus Leukocytenkonzentraten verschiedener Spender, wie von DONNELLY und SCHRECK (1961), ebenso BAIN, VAS und LOWENSTEIN (1964), ließen eine Transformation der Lymphocyten allein durch Fremdserumzusatz möglich erscheinen. Deswegen wurde eine weitere Versuchsanordnung gewählt und

Blutkulturen mit einem Zusatz von Serum eines gesunden Spenders versehen und als Fremdserumversuch bezeichnet.

Nur selten war es zumutbar, so viel Blut zu erhalten, daß die drei Versuchsserien gleichzeitig, von dem gleichen Ausgangsmaterial eines Spenders ausgehend, durchgeführt werden konnten. So mußte der Fremdserumversuch teilweise gesondert angesetzt werden.

III. MATERIAL UND METHODIK

Die Basis der Versuche bildete eine Leukocytenkultur. Das hierfür benötigte Plasma wurde von Patienten gewonnen, die weder klinisch noch anamnestisch Hinweise auf einen Morbus Pfeiffer boten.

1. Die Leukocytenkultur

In einer mit Heparin (Liquemine-Originallösung) befeuchteten 20 ml Spritze wurde dem Patienten Venenblut abgenommen - in einer Gesamtmenge von etwa 60 ml - und auf einem Objektträger ein Sofortausstrich vorgenommen. Nach Trocknung wurde er nach PAPPENHEIM gefärbt.

Das heparinisierte Venenblut wurde in einem 50 ml Röhrchen für einige Stunden bei 37° aufbewahrt, bis eine Sedimentation eintrat. Das dann überstehende leukocytenreiche Plasma wurde abpipettiert und die Zellen gezählt. Proben wurden entnommen, bei 18 g 10 Min. zentrifugiert und auf Objektträgern ausgestrichen für die Färbung der 0-Stunden-Präparate.

Für die Kontrollkulturen wurde dem übrigen Plasma 1 ml Corhormon^R, 3-fach verstärkt, und 5 Tropfen einer 0,9%igen Kochsalzlösung, die Penicillin und Streptomycin enthält, zugegeben. Entsprechend der ausgezählten Leukocytenzahl wurde mit TC Medium Eaglelösung auf 10 ml aufgefüllt, so daß die Kultur auf etwa 2000 bis 3000 Leukocyten/_{ul} eingestellt wurde. Dieser Kulturansatz wurde in 25 ml Kölbchen gegeben, um eine möglichst große Gasphase über der Flüssigkeit zu erhalten, mit Gummistopfen ver-

schlossen und bei 37°C im Brutschrank inkubiert.

2. Die Serumbereitung

Um die Pfeiffer-Serumversuche wie geplant durchführen zu können, wurde Serum von mononukleosekranken Patienten gewonnen. Folgendes Verfahren lag der Serumherstellung zugrunde:

Vier Patienten wurde mittels einer nicht heparinisierten Spritze ca. 40 ml Venenblut entnommen. Abgefüllt in ein Glasröhrchen, wurde das Blut bei 37°C so lange aufbewahrt, bis sich ein deutlich sichtbarer Blutkuchen infolge eines physiologischen Gerinnungsvorgangs gebildet hatte. Desweiteren wurde das Substrat bei 1350 g 10 Min. zentrifugiert, wodurch eine Sedimentation aller zellulären Blutbestandteile eintrat. Mit einer Pipette wurde das Serum über der Erythrocytenschicht abpipettiert und bei -25°C eingefroren aufbewahrt. Zur Durchführung der geplanten Versuche wurde es durch Erwärmen gebrauchsfähig gemacht. Aus Gründen der Zumutbarkeit konnten die für die Versuche benötigten Serummengen nicht von einem einzigen Spender gewonnen werden.

Serumspender mit dem Krankheitsbild der Mononucleose für die Pfeifferserumversuche

- 1.) Marion A., geb. 29.1.57
Paul Bunnel-Test 1 : 256
- 2.) Ursula R., geb. 11.1.56
Paul Bunnel-Test 1 : 128
- 3.) Georg R., geb. 8.11.52
Paul Bunnel-Test 1 : 256
- 4.) Georg S., geb. 12.2.32
kein Paul Bunnel-Test. Klinik und Blutbild mit charakteristischen atypischen mononucleären Zellen wurden für hinreichend eindeutig zur Diagnosestellung betrachtet.

Nach dem gleichen Verfahren wurde Serum von zwei Patienten für die Fremdserumversuche gewonnen, deren aktueller

Zustand nicht den Verdacht eines Morbus Pfeiffer aufkommen ließ und deren Anamnese ebenfalls ohne Hinweis auf die genannte Erkrankung war.

Serumspender für die Fremdserumversuche

1.) Selin C., geb. 26.3.42

Diagnose: Gastroduodenitis

2.) Paul H., geb. 13.7.05

Diagnose: Bronchial-Carcinom

Hinweise auf das jeweils verwendete Serum und den Spender finden sich im Rahmen der Versuchsbeschreibung.

3. Es wurden folgende Versuchsanordnungen durchgeführt:

Kontrollversuch:

Eine Leukocytenkultur wurde wie oben beschrieben hergestellt. Serumzusätze erfolgten nicht. Das Verhalten der Lymphocyten wurde durch die in vitro-Bedingungen der Versuchsanordnung bestimmt.

Pfeifferserumversuch:

Das Kulturmedium gleich dem des Kontrollversuchs, nur 1 ml Eagle Medium wurde durch 1 ml Serum eines an Mononucleose erkrankten Patienten ersetzt. Das entsprach einem Anteil an Pfeifferserum von 10% im Kulturmedium.

Fremdserumversuch:

Das Kulturmedium entsprach wieder dem der vorangegangenen Versuche, nur 1 ml Eagle Medium wurde durch 1 ml Serum einer Versuchsperson ersetzt, bei der kein Morbus Pfeiffer diagnostiziert werden konnte. Das entsprach einem Anteil von 10% Fremdserum in der Kultur.

Zur Beobachtung des Leukocytenverhaltens unter den genannten Bedingungen diente auch für den Fremdserumversuch ein Kontrollversuch, bei dem dieselben Zellen Verwendung fanden wie für den Fremdserumversuch, allerdings ohne den erwähnten Fremdserumzusatz.

4. Aufarbeitung der Kulturen

Den Leukocytenkulturen wurden nach der Inkubation im

25 ml Kölbchen bei 37°C im Brutschrank jeweils am 1., 2., 3., 5., 7. und 9. Tag 1-2 ml Proben entnommen und bei 18 g (entspricht 500 U/Min.) 10 Min. zentrifugiert. Die Proben wurden decantiert und das Sediment auf dem Objektträger ausgestrichen und luftgetrocknet. Fixiert mit MAY-GRÜNWALD-Lösung wurden die Ausstriche mit GIEMSA-Lösung nach PAPPENHEIM gefärbt.

Färbung nach PAPPENHEIM

- 1.) Der Ausstrich wird mit Lösung nach MAY-GRÜNWALD übergossen.
- 2.) 3 Min. einwirken lassen.
- 3.) Mit Aqua dest. abspülen.
- 4.) Giemsa-Lösung 1 : 5 mit Aqua dest. verdünnen und aufgießen.
- 5.) 5 Min. einwirken lassen.
- 6.) Mit Aqua dest. abspülen und trocknen.

5. Auswertung der Präparate

Die Zellzählung erfolgte mäanderförmig und bewegte sich bevorzugt in dem aufgelockerten Randgebiet, der sogenannten Ausstrichfahne. Es kamen pro Präparat jeweils 200 Zellen zur Auszählung.

Insgesamt wurden 36 Kulturen mit 288 Ausstrichen angefertigt. Sechs dieser Kulturen konnten nicht bis zum 9. Tag in der Auswertung berücksichtigt werden, da die Ausstriche zu wenig intakte Zellen enthielten. Eine definitive Aussage über die Stimulationsfähigkeit eines Pfeiffer-Serum-Zusatzes auf die Lymphocyten ließ sich nur dann treffen, wenn hinreichende Vergleichsmöglichkeiten mit der Kultur ohne Pfeiffer-Zusatz, dem Kontrollversuch, gegeben waren. Wenn nun eine der zwangsläufig miteinander verknüpften Versuchsreihen (Kontrollversuch u. Pfeiffer-Zusatz) aus versuchstechnischen Gründen nicht auswertbar war, konnten die Ergebnisse der anderen nicht als genügend gesichert angesehen werden. Dies erklärt die hohe Zahl der in der Auswertung nicht berücksichtigten Kulturen.

Dem Gesamtergebnis aus allen ausgewerteten Untersuchungen liegt die Auszählung und Differenzierung von ca. 35 000 Zellen zugrunde; beschädigte Zellen blieben unberücksichtigt. Mit Ausnahme der segmentkernigen Granulozyten wurden sämtliche Zellen der Ausstriche differenziert.

IV. ERGEBNISSE

1. Zelldifferenzierung

Wir haben die Zellen nach den charakteristischen Eigenschaften unterschieden (siehe auch Abb. 1-4):

Lymphocyt (Ly):

Der dunkle, rot-violette Kern des Lymphocyten ist rund, selten oval oder eingebuchtet. Das Chromatin ist ein Netzwerk von Fäden und Strängen, welche kaum vom Parachromatin abgegrenzt werden können. Dies bedingt das wolkig-schollige Aussehen. Ein hell basophiles Cytoplasma umschließt den Kern oft nur mit einem schmalen Saum.

Lymphoblast (Lybl):

Eine grobmaschige, etwas durchsichtig scheinende Chromatinstruktur kennzeichnet den Kern. Häufig sind Nucleolen feststellbar. Mehr helles basophiles Cytoplasma, teilweise feintrophig aufgehellte, umgibt den exzentrisch gelagerten Kern, so daß die Zelle größer als der Lymphocyt erscheint.

Virocyt (Vi):

Unterscheidet sich vom Lymphocyten morphologisch nur durch einige azurophile Granula, die in das Cytoplasma eingestreut sind.

Stimulierter Lymphocyt (st. Ly):

Unterscheidet sich vom Lymphocyten durch Zunahme der Größe und Basophilie von Kern und Cytoplasma. Der Kern zeigt deutliche Auflockerungstendenzen und wirkt mehr netzig strukturiert. Nucleoli deuten sich schwach sichtbar an. Die Form ist stärker entrundet, deut-

liche Einbuchtungen und Längsstreckungen treten auf. Das Cytoplasma zeigt stärkere Basophilie und schließt den Kern nicht immer vollständig ein.

Immunoblast (Ibl):

Er wird nach der Größe in zwei Gruppen geteilt:

Der kleine Immunoblast (größer als der stimulierte Lymphocyt) zeigt eine typisch netzige Kernstruktur bei nicht immer scharf markierten Kerngrenzen und großer Variationsbreite der Form. Nucleoli können beobachtet werden. Das Cytoplasma ist hell oder dunkelbasophil und umfließt den Kern exzentrisch.

Der große Immunoblast weist eine noch lockerere Gesamtstruktur auf. Der Kern wirkt weitmaschig netzig. Nucleoli zeigen sich, verschiedenste runde oder ovale Kernformen lassen sich beobachten. Das Cytoplasma scheint zerfließlich, ist häufig vakuolisiert und meist von hellblauer Farbe.

Promonocyt (Promono.):

Sein größerer, runder oder ovaler Kern mit der zarten lockeren Chromatinstruktur liegt meist zentral von rauchgrauem, nicht granuliertem Cytoplasma umgeben.

Monocyt (MO):

Der helle Kern stellt sich in verschiedenen Formen dar: eingebuchtet, gelappt oder stabförmig, mit zartem, locker strukturiertem Chromatin. Das Cytoplasma ist rauchgrau gefärbt, manchmal fein azurophil granuliert.

Plasmazelle (Pl):

Der Kern ist klein, rund und weist häufig eine Radspeichenstruktur auf, die für diesen Zelltyp charakteristisch ist. Kornblumenblaues Protoplasma umgibt den Kern in reicher Menge und weist ihm einen randnahen exzentrischen Platz zu. Plasmatische Aufhellungen im Bereich des Kerns sind nicht

selten. Auftreten von Vakuolen ist nicht ungewöhnlich.

Reticulumzelle (Re):

Die in der Regel runden oder auch ovalen großen Kerne der Reticulumzelle sind sehr locker netzig strukturiert. Diffus umschließt das hellblaue, teils auch rosafarbene Cytoplasma den Kern, manchmal ohne deutliche Zellabgrenzung. Nackte Kerne finden sich oft.

Makrophagen (Ma):

Hierbei handelt es sich um sehr große Zellen, die sich erst nach einer längeren Kulturzeit beobachten lassen. Sie treten im Zusammenhang mit der degenerativen Veränderung anderer Zellen der weißen Reihe auf. Sie zeigen einen ovalen exzentrisch gelegenen Kern dunkelroter, teils auch violetter Färbung. Blaßblaues Cytoplasma umfließt ihn weiträumig und ohne deutliche Begrenzung. Vakuolen, Kern- und Zelltrümmer finden sich als Einschlußformationen innerhalb der weiten Cytoplasmagrenzen. Oft sind die Makrophagen in Gruppen gelagert, wobei das Cytoplasma zu weitreichenden Konglomeraten verschmolzen scheint und eine strenge Zellabgrenzung nicht mehr möglich ist.

Die Differenzierung zwischen Lymphocyten, stimulierten Lymphocyten und Immunoblasten unterliegt trotz der beschriebenen morphologischen Kriterien einer gewissen subjektiven Beurteilung des Betrachters. Um hier unseren Standpunkt deutlich zu machen, sind nachfolgend die wichtigsten Zellgruppen photographisch dargestellt. Abbildungen typischer Lymphoidzellen bei Morbus Pfeiffer dienen zum Vergleich.

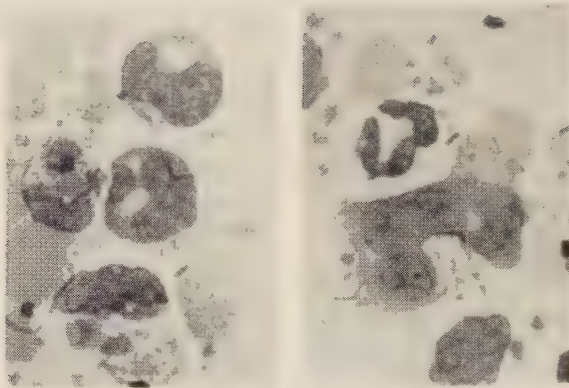


Abb. 1a

b

24-Stunden-Präparat einer Blutkultur bei Morbus Pfeiffer.⁺⁾

- a) Zwei Lymphoidzellen, auch atypische mononucleäre Zellen genannt, mit aufgelockerter Kernstruktur und dunkel basophilem Cytoplasma. Ihr Nachweis im Blutbild ist pathognomonisch für Morbus Pfeiffer.
- b) Eine wesentlich größere Lymphoidzelle hat sich schon zum Immunoblasten mit Nucleolen entwickelt.

^{+) Durch freundliche Überlassung von I. Boll.}

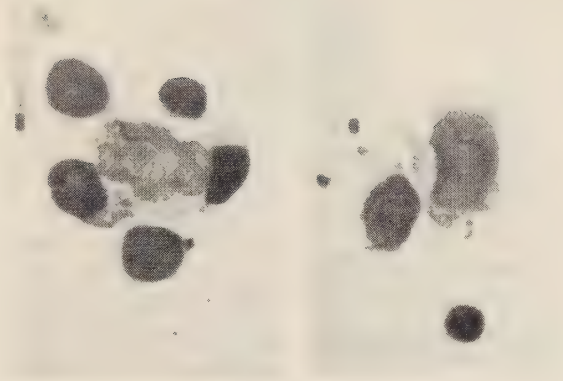


Abb. 2a

b

3-Tage-Präparat eines Pfeiffer-Serum-
versuchs (Versuch 1).

- a) Eine Rosette mit zentralem Promono-
cyten, ringförmig umlagert von Lympho-
cyten verschiedener Entwicklungsstu-
fen. Bei 1 Uhr ein Lymphocyt mit
schmalem Cytoplasmasaum und besonders
dichtem dunklen Kern, bei 6 und 11 Uhr
zwei weitere Lymphocyten mit aufge-
lockerter Kernstruktur. Dazwischen
normale Lymphocyten.
- b) Kleiner Immunoblast mit Nucleolus in
Bewegung, links daneben ein stimu-
lierter Lymphocyt.

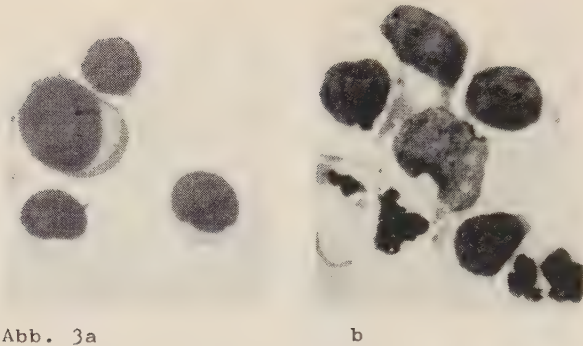


Abb. 3a

b

3-Tage-Präparat eines Pfeiffer-Serumversuchs.

- a) Ein großer basophiler Immunoblast ist von drei stimulierten Lymphocyten umgeben.
- b) Ein zentraler großer Immunoblast mit kleinen Cytoplasmavacuolen ist umgeben von vier stimulierten Lymphocyten. Der obere von ihnen bei 12 Uhr zeigt wegen seines basophilen Cytoplasmas eine Übergangsform zum Immunoblasten.

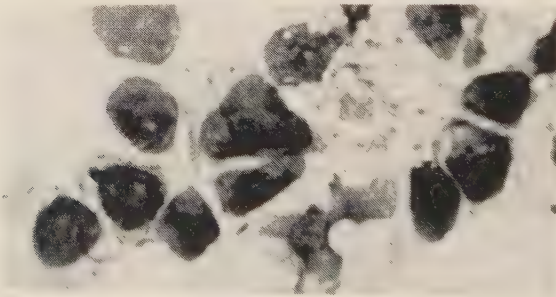


Abb. 4

3-Tage-Präparat eines Pfeiffer-Serumversuchs.

Links unten eine Gruppe von drei stimulierten u. zwei normalen Lymphocyten. Daran anschließend halb links ein Immunoblast mit viel bas. Cytoplasma. In der Mitte zwei hochgradig vacuolisierte Makrophagen, rechts zwei stimulierte Lymphocyten, zwischen ihnen ein kleiner Immunoblast.

2. Darstellung der Graphiken und Tabellen

Die Ergebnisse der Auszählung der Präparate werden mittels eines Koordinatensystems graphisch dargestellt. Die Abzisse gibt die Kulturzeit in Tagen (d) an, die Ordinate die Zellen zu den Stichprobenpunkten in Prozenten, bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Zellen. Zur besseren Verdeutlichung der Veränderungen in den Mengenverhältnissen der Zellen zueinander wird die additive Methode der Darstellung gewählt. Dadurch entspricht die Fläche zwischen den einzelnen Kurven der Zellmenge der einzelnen Fraktionen. Quantitative Veränderungen lassen sich so leicht erkennen. Die Fläche, die der Menge der Immunoblasten zugeordnet ist, wird - um ihre besondere Bedeutung hervorzuheben - schraffiert. Zellpopulationen, die nicht mit mehr als drei Prozent der Gesamtzahl in Erscheinung traten, finden aus Gründen der Übersichtlichkeit keine Berücksichtigung in den Diagrammen. Daraus resultiert aufgrund des hier benutzten Verfahrens eine kompensatorische Vergrößerung der Makrophagenfraktion. Als letzte Gruppe ergänzen sie sich nämlich immer zu 100% und enthalten deshalb auch die 1-2% der seltenen Zelltypen, die im Diagramm nicht erfaßt sind (speziell Plasmazellen und Reticulumzellen). Eine Auskunft über die Prozentzahlen aller ausgewerteten Zellarten geben die vorliegenden Tabellen.

Die Fraktion der Granulocyten bleibt bei der Auswertung unberücksichtigt. Ein massiver Abfall dieser Zellgruppe binnen dreier Kulturtage ist die Regel und entspricht dem erwarteten Verhaltensmuster (Arbeiten von GROPP u. FISCHER mit Leukocytenkulturen 1964). Ich verweise hier auch auf die Beobachtungen von FW. SCHINZ. Um das Verhalten der Lymphocyten und der sich entwickelnden Alterationsformen deutlich zu machen und um zu verhindern, daß das Kurvenbild durch den Abfall der Granulocyten bis zum dritten Tag eine scheinbare Vermehrung

der Lymphocyten in der gleichen Zeit verzeichnet, finden die Granulocyten bei der Zellzählung keine Beachtung. Die Immunoblastenfraktion wird graphisch als einheitliche Gruppe dargestellt. Aus den Tabellen kann aber noch die Differenzierung nach großen und kleinen Zellen dieser Art entnommen werden, wie sie auch schon bezüglich ihrer morphologischen Unterschiedlichkeit oben beschrieben wurde.

Tabelle Nr. 1

soll einen Überblick über alle Versuche mit Mononucleo-seserumzusatz geben. Die Patienten sind mit Namen, Alter, Diagnose, Tag, Prozentsatz der maximalen Stimulation und den Ergebnissen des entsprechenden Kontrollversuchs sowie den dazugehörigen X^2 und P-Werten aufgeführt. Die beiden letztgenannten Werte geben Auskunft über die Signifikanz der ermittelten Ergebnisse. Weitere Betrachtungen dazu finden sich unter der Rubrik Signifikanz. (s. Seite 20)

Die Fremdserumversuche zeigen im wesentlichen keine Stimulation der Lymphocyten. Aus diesem Grunde wird auf eine Signifikanzberechnung und eine Auflistung der Immunoblasten-Prozente in einer Übersichtstabelle verzichtet.

Nr.	N A M E	D I A G N O S E	ALTER	%Ibl (Pfeiffers.)	TAG	%Ibl (Kontrolle)	χ^2	P
1	BERND-M. H.	KEIN BEFUND	26	42	3	1	99.6	10^{-10}
2	BIANKA-MARIA K.	KEIN BEFUND	29	31	2	1	66.9	10^{-10}
3	HILDEGARD B.	COLITIS ULC.	40	21	2	3	30.6	10^{-9}
4	MARIANNE K.	ANÄMIE (Fe-Mangel)	33	29(17)	3(2)	(1)	(31.2)	(10^{-7})
5	ANNELIESE A.	TUBERKULOSE	49	14	3	3	15.5	0.00008
6	SELMA H.	HERZINSUFFIZIENZ	83	5	2	1.5	3.89	0.04
7	GRETE H.	LYMPHOSARKOM	81	21	3	8	15.37	0.00001
8	ERIKA D.	PLASMOCYTOM	34	29(16.5)	4(3)	(1)	(28.63)	(10^{-7})
9	CHARLOTTE G.	AKUTE LYMPH. LEUKÄMIE	64	29.5	2	1	69.2	10^{-10}
10	CHARLOTTE G.	AKUTE LYMPH. LEUKÄMIE	64	46	7	1	97.7	10^{-10}
11	HEINANN M.	CHRON. LYMPH. LEUKÄMIE	66	5	3	3	1.04	0.32
12	MARTHA L.	ERYTHRAMIE	62	7.5	2	0.5	1.59	0.22

Tab. 1: Übersicht über alle Versuche mit Zugabe von Mononucleose-Serum.

Maximale Stimulation in %Ibl, Tag und %Ibl in der dazugehörigen Kontrollkultur (gleicher Tag). Fehlte in der Kontrolle der entsprechende Kulturtag, wurde für den statistischen Vergleich auf den zweitmaximalen Tag ausgewichen. Tag und Werte dann in Klammern.

3. Die Signifikanz

Das gehäufte Auftreten von Immunoblasten in Mononucleose-serum-Kulturen und der Verdacht einer Stimulation, die über das Maß des Normalen und Spontanen hinausgeht, legen den Gedanken einer Signifikanzberechnung der Ergebnisse nahe. Es kommt dabei das X^2 -Verfahren in Anwendung.

$$X^2 = \frac{(B - E)^2}{E}$$

Jedem X^2 ist tabellarisch ein P-Wert (Probability) zugeordnet, der die Signifikanzschranke angibt.

P-Werte kleiner als 0,01 sind signifikant, größer als 0,05 sind nicht signifikant.-

Statistisch verglichen wird der Pfeifferserumversuch mit dem dazugehörigen Kontrollversuch. Von einer Signifikanzberechnung des Fremdserumversuchs im Vergleich zu dem dazu parallelen Kontrollversuch wird abgesehen, da keinerlei Auffälligkeiten bei der Verteilung stimulierter Lymphocyten festgestellt werden konnten.

Bei der Signifikanzberechnung der ersten Versuchsreihe werden die Immunoblastenfraktionen des jeweils gleichen Kulturtages mit und ohne Zusatz von Mononucleoseserum verglichen. Ein statistischer Vergleich ist nur dann nicht möglich, wenn die Kulturstage bei Kontroll- und Pfeifferserum nicht übereinstimmen. In zwei Fällen (3. und 8. Versuch) können deshalb die P-Werte der höchsten Immunoblastenprozentage nicht ermittelt werden. In der Übersichtstabelle wird auf den Tag mit der zweithöchsten Stimulationsrate ausgewichen. Die Werte - Tag, %Ibl und P - stehen deshalb in Klammern. Tabellarisch sind sämtliche X^2 und P-Werte aufgeführt. Auf Besonderheiten und Kausalitäten bei den einzelnen Versuchen sei im folgenden noch einmal hingewiesen.

N A M E			1 d	2 d	3 d	5 d	6 d	7 d
1.	Bernd-M. H.	X^2 P	87.8 10^{-10}	106.1 10^{-10}	99.6 10^{-10}			
2.	Bianka M.K.	X^2 P	30.1 10^{-7}	66.9 10^{-10}	26.6 10^{-7}			
3.	Hildegard B.	X^2 P	17.9 2×10^{-5}	30.6 10^{-7}	22.1 7×10^{-5}			
4.	Marianne K.	X^2 P		31.2 10^{-7}			26.1 10^{-6}	
5.	Anneliese A.	X^2 P	9.04 2×10^{-3}		15.55 8×10^{-5}			
6.	Selma H.	X^2 P	10.25 1×10^{-3}	3.89 0.048	2.01 0.16			
7.	Grete H.	X^2 P	15.3 1×10^{-5}		15.8 5×10^{-5}	12.37 4×10^{-4}		
8.	Erika D.	X^2 P	66.47 10^{-10}		28.63 10^{-7}		3.63 0.06	
9.	Charlotte G.	X^2 P		69.20 10^{-10}		2.84 0.09		
10.	Charlotte G.	X^2 P		1.01 0.32	6.51 0.01	50.92 10^{-10}		97.97 10^{-10}
11.	Hermann M.	X^2 P			0.41 0.53	1.04 0.32		
12.	Martha L.	X^2 P		1.59 0.22	0.2 0.88	0.13 0.95		

Tab. 2: Ergebnisse der Signifikanzberechnung der absoluten Immunoblastenzahlen an den einzelnen Kulturtagen zwischen Pfeifferserum- und Kontrollversuch. Der obere Wert in den einzelnen Spalten stellt X^2 dar, der untere den resultierenden P-Wert.
(d = Tag).

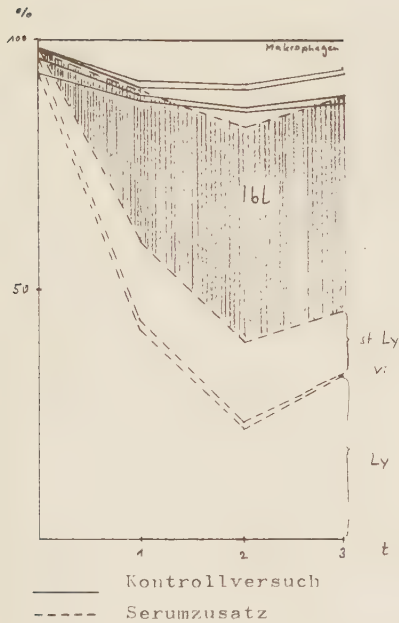
4. Beschreibung der Versuche im einzelnen

Die Versuche 1 und 2 (Abb. 5,6 Tab. 3,4) zeigen hohe Signifikanzen ($P = 10^{-7}$ bis 10^{-10}) zu allen drei Kulturzeiten, die eine Berechnung ermöglichten. Eine Grundkrankheit liegt bei diesen Probanden nicht vor. Die in Abb. 2, 3 und 4 photographisch dargestellten Immunoblasten wurden bei dem gleichen Versuch Nr. 1 am dritten Tag (unter Einfluß von Mononucleose-Serum) beobachtet. Versuch 3 (Abb. 7 Tab. 5) zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf an den ersten drei Tagen mit Signifikanzen zwischen 10^{-5} und 10^{-7} . Das Maximum der Stimulation liegt am 2. und 3. Tag, abfallende Tendenz der Ibl zeigt sich bei den Versuchen 1 und 2 nicht; die Makrophagen finden sich im Beobachtungszeitraum nur spärlich. Bei Versuch 3 ergibt sich schon am 3. Tag eine Verminderung der Ibl-Prozente, ebenso eine relative Zunahme der Makrophagen, die insgesamt stärker vertreten sind (Grundkrankheit: Colitis ulcerosa).

Versuche Nr. 4 und 5 (Abb. 8 u. 9, Tab. 6 u. 7) lassen eine Beobachtung über 7 und 5 Tage zu. Die Signifikanz liegt bei 10^{-6} (Versuch Nr. 4) und 10^{-3} bis 10^{-5} (Versuch Nr. 5). Die bisher geringste Stimulation im 5. Versuch korreliert mit dem bisher höchsten Alter der Spenderin (Jahrgang 1926, Grundkrankheit: Tuberkulose). In beiden Fällen ist die Makrophagenrate recht hoch, besonders bei der Tbc im 5. Versuch.

Der 6. Versuch (Abb. 10, Tab. 8) zeigt nun gar keine signifikante Stimulation mehr. Das Kurvenbild insgesamt ähnelt dem der Fremdserumversuche (Abb. 16-22) mit wenig schwankenden Zellfraktionen. Der Makrophagenanteil liegt im gesamten Beobachtungszeitraum hoch (15-20%). Die Spenderin der Kultur hat das höchste Lebensalter aller Versuchspersonen (84 Jahre).

Die Versuche 7 und 8 (Abb. 11, 12 Tab. 9,10) weisen wieder eine Stimulation mit Signifikanzen von bis zu 10^{-10} auf. Die Beobachtungsdauer beträgt 5 und 6 Tage. Die Ver-



Die Prozentzahlen der verschiedenen Zellen sind additiv auf der Ordinate aufgetragen.
Auf der Abszisse findet sich die Zeitfolge der einzelnen Kulturtage.

Folgende Abkürzungen wurden verwendet:

- Ly - Lymphocyt
- Vi - Virocyt
- st. Ly - stimulierter Lymphocyt
- IbL - Immunoblast
- Prom - Promonocyt
- Mo - Monocyt
- Pl - Plasmazelle
- Pro.Eb - Proerythroblast
- Eb - Erythroblast
- Ly.blast - Lymphoblast
- Ma - Makrophagen

Abb. 5

Der Bereich der Immunoblasten wurde schraffiert.

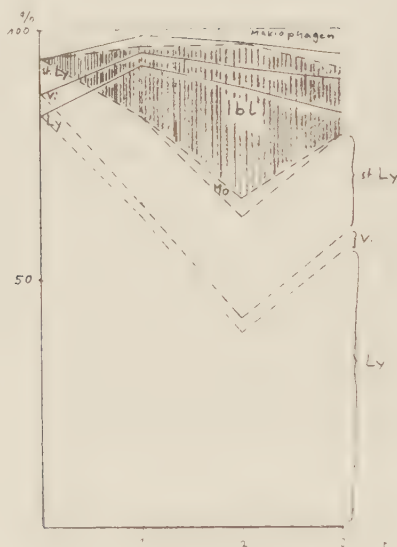
KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	2	3	
Lymphocyten	93	87	85	87	93	41,5	21,5	32,5	Prozentuale
Virocyten	3	1	0,5	2	3	2	1,5	-	Verteilung
stim.Lymphoc.	2	1,5	4	4	2	15,5	25,5	13	aller dif-
Promonocyten	-	0,5	-	-	-	-	-	-	ferenzier-
Monocyten	1	0,5	1	1,5	1	0,5	1,5	1	ten Zell-
Immunobl. klein	-	-	0,5	1	-	29	30	25	arten a.d.
Immunobl. groß	-	-	-	-	-	7	12	17	verschiede-
Plasmazelle	-	1	-	-	-	1	0,5	1	Kulturtagen.
Reticulumz.	-	-	-	-	-	-	1,5	0,5	Gegenüber-
Makrophagen	1	8,5	9	4,5	1	3,5	6	10	stellung v.

Tab. 3

PFEIFFER-SERUM-Vers. u. dazugehör. KONTROLLVERSUCH



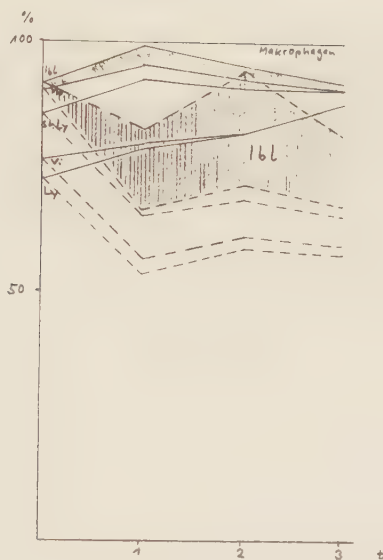
Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb. 6

KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	2	3
Lymphocyten	82,5	92,5	88	83	82,5	62	39	55
Virocyten	4,5	2,5	4	6,5	4,5	3	2,5	3
stim. Lymphoc.	7	3,5	5	5	7	17	19,5	20
Promonocyten	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Monocyten	-	-	-	0,5	-	0	3,5	0,5
Immunoblasten klein	-	-	0,5	1	-	12	23,5	11,5
Immunoblasten groß	-	-	0,5	-	-	2	7,5	3,5
Plasmazellen	1	-	-	-	1	-	1	-
Reticulumzellen	1,5	-	-	-	1,5	-	2	-
Makrophagen	3,5	1,5	1,5	1,5	3,5	4	1,5	6,5



Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb. 7

KONTROLLVERSUCH

PFEIFFER SERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	2	3
Lymphocyten	72	78	81	87	72	53	58	57
Virocyten	4	1	-	-	4	3	2,5	2
stim.Lymphoc.	9	13	9	3	9	8,5	7	5,5
Promonocyten	-	-	-	-	-	0,5	-	-
Monocyten	5	3	1	-	5	0,5	3	2
Immunoblasten klein	1	4	1	-	1	15	18	8
Immunoblasten groß	-	-	2	1	-	2	3	5
Plasmazellen	1	-	-	1	1	-	-	-
Reticulumzellen	-	-	1	-	-	-	-	-
Makrophagen	8	1	5	8	8	17,5	8,5	20,5

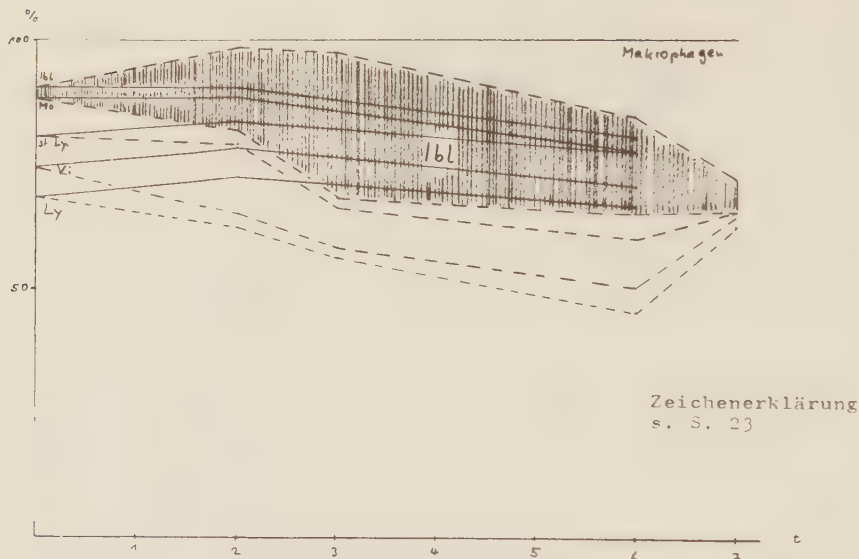


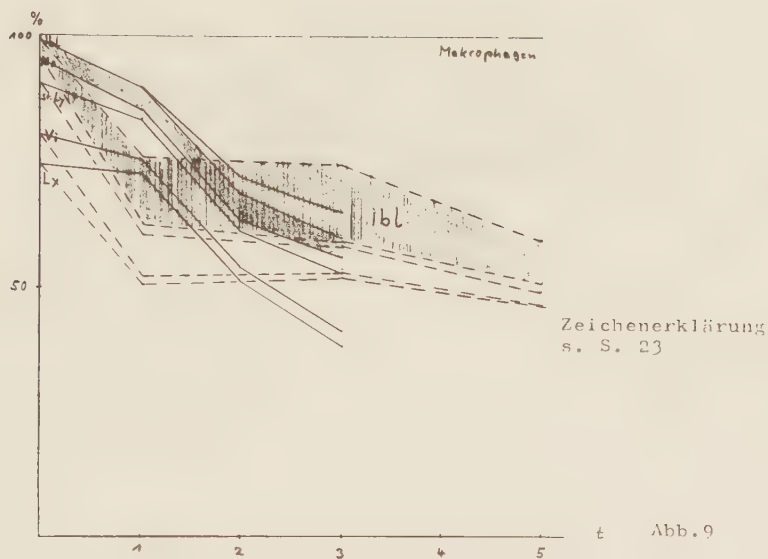
Abb. 8

KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	2	6	0	2	3	6	7
Lymphocyten	68	72	66	68	62	56	45	62,5
Virocyten	6	6	4	6	3	2	4,5	2
stim.Lymphoc.	6	5	7	6	13	8	9	1
Promonocyten	1,5	1	-	1,5	1	-	0,5	-
Monocyten	8	5	-	8	3	2	4,5	-
Immunoblasten klein	2	1	3	2	11	21	6	3,5
Immunoblasten groß	-	-	-	-	6	8	13	3
Plasmazellen	-	1	1	-	-	1	-	-
Reticulumzellen	-	-	1	-	-	1	-	-
Makrophagen	8,5	9	18	8,5	1	1	17,5	28

Tab. 6



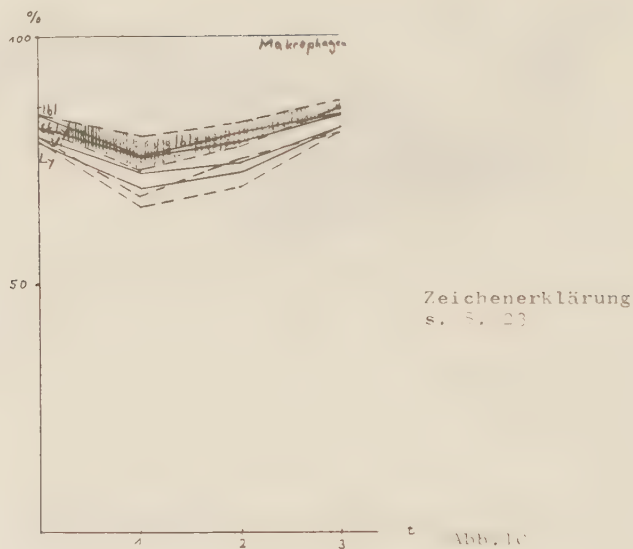
KONTROLLVERSUCH

PFEIFFER-SERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	3	5
Lymphocyten	74	72	47	38	74	50	51,5	46,5
Virocyten	6	3	4	3	6	1,5	1	-
stim.Lymphoc.	10	8	10	11	10	8,5	6,5	2,5
Promonocyten	-	-	0,5	-	-	-	-	0,5
Monocyten	5	1,5	2	3	5	2	1	1,5
Immunoblasten klein	4	4,5	3	3	4	12	7	3
Immunoblasten groß	-	-	1,5	-	-	1	7	5
Plasmazellen	-	1	1	1	-	-	-	-
Reticulumzellen	-	-	3	5	-	-	-	-
Makrophagen	1	10	29	36	1	25	26	41

SELMA H.
HERZINSUFFIZIENZ
84 Jahre

Versuch Nr. 6



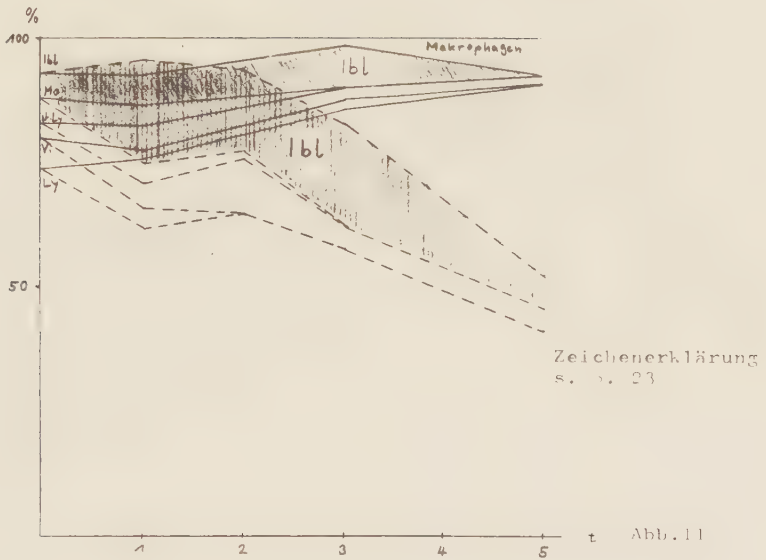
KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	2	3
Lymphocyten	78	69	72	81	78	65	69	79,5
Virocyten	1	3	2	-	1	2	4	-
stim. Lymphoc.	1,5	3	4	2	1,5	5	3	5
Promonocyten	-	0,5	-	-	-	-	-	-
Monocyten	2	-	0,5	-	2	2	-	0,5
Immunoblasten klein	1	-	1,5	-	1	5	3	-
Immunoblasten groß	-	-	-	-	-	-	2	1
Plasmazellen	1	-	-	-	1	-	-	-
Reticulumzellen	-	1	-	-	-	1	1	-
Makrophagen	15,5	23,5	20	17	15,5	20	18	19

GRETE H.
LYMPHOSARKOM
81 Jahre

Versuch Nr. 7



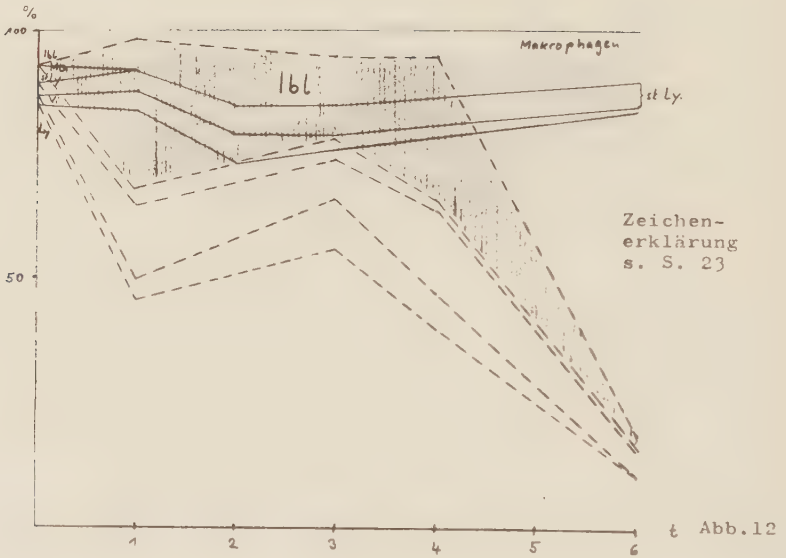
KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	3	5	0	1	2	3	5
Lymphocyten	73	75,5	85	90,5	73	61	64	57	41,5
Virocyten	6	1,5	2	0,5	6	4	-	-	-
stim.Lymphoc.	3	4	2,5	2	3	5	11,5	4,5	4
Promonocyten	2	1	-	-	5	5	1,5	-	-
Monocyten	5	3,5	-	-	5	5	1,5	-	-
Immunoblasten klein	5	4	6	-	5	15	12	11	1,5
Immunoblasten groß	-	2	2	-	-	5	4	10	4,5
Plasmazellen	1	1	-	-	1	0,5	-	-	-
Reticulumzellen	-	1	-	-	-	-	1	-	-
Makrophagen	5	6,5	2,5	7	5	4,5	6	17,5	48,5

ERIKA D.
PLASMOCYTOM
34 Jahre

Versuch Nr. 8



KONTROLLVERSUCH

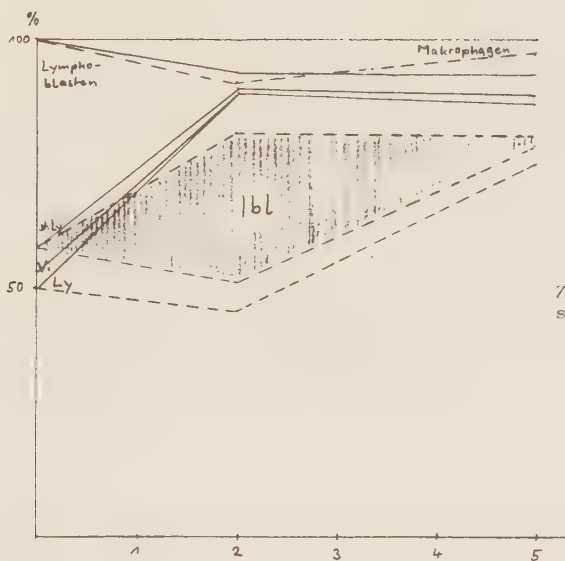
PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	6	0	1	3	4	6
Lymphocyten	85	84	73	76	84	85	46	56,5	40	10,5
Virocyten	2	4	6	3	1	2	4	9,5	7,5	-
stim.Lymphoc.	2,5	4	5,5	6	5	2,5	15	8	16,5	5,5
Promonocyten	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Monocyten	3	-	1	-	-	3	3	4	2	-
Immunoblasten klein	-	-	0,5	1	-	-	15	8,5	20	2
Immunoblasten groß	-	-	-	-	0,5	-	18,5	8	9	1
Plasmazellen	3	3	2,5	1	-	3	-	-	-	-
Reticulumzellen	2	1	1,5	1	-	2	-	2	-	-
Makrophagen	2,5	4	10	12	9,5	2,5	0,5	3,5	5	81

CHARLOTTE G.
AKUTE LYMPH. LEUKÄMIE
64 Jahre

- 31 -

Versuch Nr. 9



Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb. 13

KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	2	5	0	2	5
Lymphocyten	50	89	87	50	45	75
Virocyten	3	-	-	3	-	-
stim. Lymphoc.	4,5	0,5	1,5	4,5	6	0,5
Promonocyten	1	-	-	1	-	-
Monocyten	-	-	-	-	0,5	-
Immunoblasten klein	-	0,5	-	-	21	0,5
Immunoblasten groß	-	-	1	-	8,5	3
Plasmazellen	-	-	-	-	-	-
Reticulumzellen	0,5	-	-	0,5	0,5	-
Makrophagen	-	6	7,5	-	7	19
Lymphoblasten	41	4	3	41	11,5	2

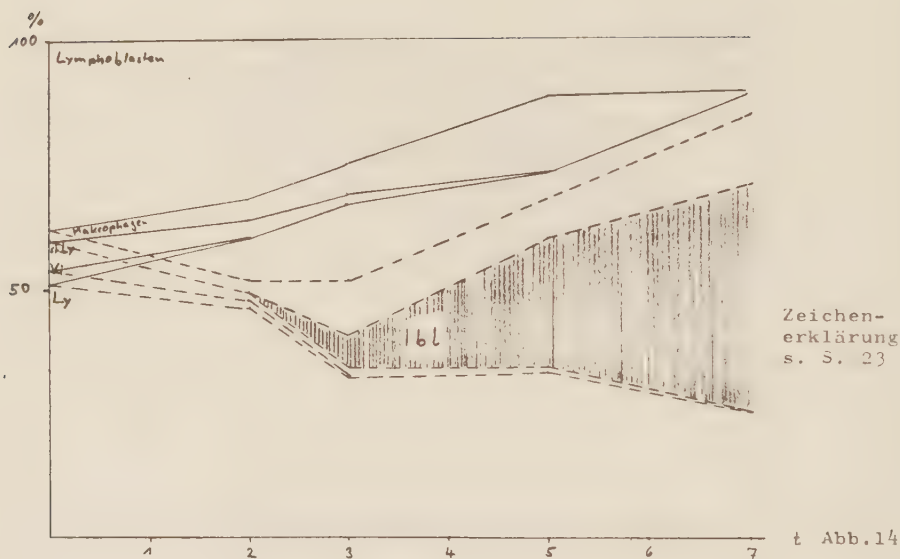
Tab. 11

CHARLOTTE G.

AKUTE LYMPH. LEUKÄMIE

64 Jahre

Versuch Nr. 10



KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	2	3	5	7	0	2	3	5	7
Lymphocyten	51,5	60	67	73	89	51,5	47	32	33	25
Virocyten	2	-	-	-	-	2	1	-	-	-
stim.Lymphoc.	7	3	2	-	-	7	1	2	1	-
Promonocyten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Monocyten	1	0,5	-	-	-	1	-	0,5	-	-
Immunoblasten klein	-	-	1	-	-	-	0,5	6	19	27
Immunoblasten groß	-	-	0,5	1	1	-	-	0,5	6	19
Plasmazellen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reticulumzellen	1	1	-	-	-	1	1,5	1	-	-
Makrophagen	1	3	6	15	+	1	2,5	11	8	13,5
Lymphoblasten	36,5	32,5	23,5	11	10	36,5	46,5	47	33	15,5

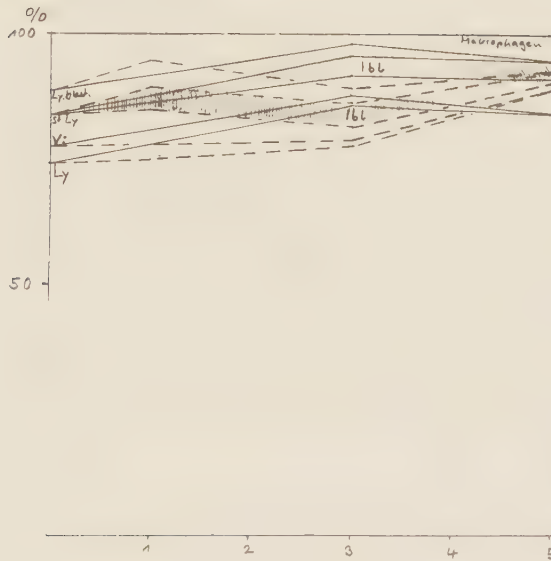
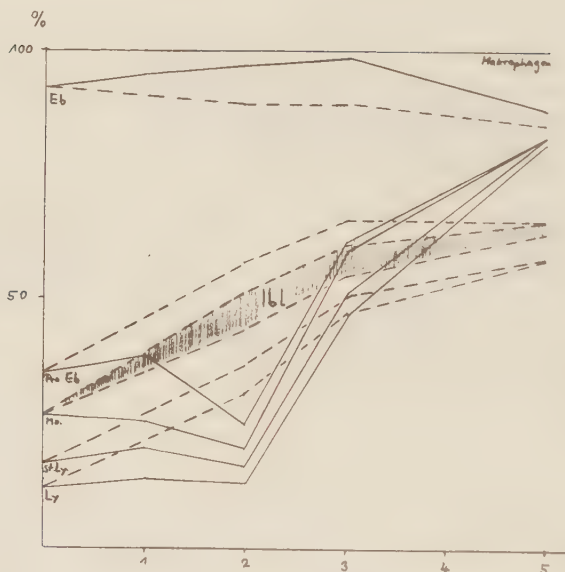


Abb. 15

KONTROLLVERSUCH	PFEIFFERSERUM						
kulturzeit (d)	0	3	5	0	1	3	5
Lymphocyten	74	86	84	74	75	78	89
Virocyten	3	2	-	3	1	-	-
stim.Lymphoc.	7	4	7	7	10	3	1
Promonocyten	0,5	-	-	0,5	-	-	-
Monocyten	2	-	-	2	1	-	-
Immunoblasten klein	0,5	2	1	0,5	2,5	3	-
Immunoblasten groß	-	1	2	-	1	2	2
Plasmazellen	1	-	-	1	-	-	-
Reticulumzellen	1,5	2	-	1,5	2	1	-
Makrophagen	7	0,5	6	7	1,5	11	8
Lymphoblasten	3,5	2,5	-	3,5	5	2	-

Tab. 13



Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb.16

KONTROLLVERSUCH

PFEIFFERSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	5	0	2	3	5
Lymphocyten	12	14	13	47	78,5	12	31	47	58
Virocyten	1,5	1,5	1	0,5	-	1,5	1	1	-
stim.Lymphoc.	4,5	4	2,5	3,5	1	4,5	5,5	3,5	-
Promonocyten	1	-	-	-	-	1	-	-	-
Monocyten	9,5	5	4	8,5	-	9,5	7,5	3,5	5
Immunoblasten	0,5	-	0,5	1,5	-	0,5	7,5	6	1,5
Plasmazellen	2	1	-	-	-	2	1	-	-
Reticulumz.	1,5	1	1	-	-	1,5	1	-	-
Proerythrobl.	7,5	13	5	1	-	7,5	6	4	-
Erythrobl.	58	56,5	66	36	7,5	58	29,5	24	18,5
Myelocyten	1	-	-	-	-	1	1	-	-
Makrophagen	1	4	7	2	13	1	9	11	17

laufskurven der Immunoblasten scheinen trotz unterschiedlicher Maxima vergleichbar. Der gemeinsame Abfall aller lymphatischen Zellen gegen Kulturrende und die gleichzeitig starke Vermehrung der Makrophagen vollzieht sich in beiden Versuchen fast parallel. Grete H., der das Material für die 7. Kultur entnommen worden war, ist 81 Jahre alt. Als Grundkrankheit wurde ein Lymphosarkom festgestellt.

Kultur 9 und 10 (Abb. 13,14, Tab. 11,12) wurden aus dem Blut derselben Spenderin gewonnen, allerdings mit einem zeitlichen Abstand von 4 Monaten. Die 64 Jahre alte Patientin ist an einer akuten lymphatischen Leukämie erkrankt. Die Signifikanzberechnung erreicht auch hier wieder Werte von maximal 10^{-10} . Auffällig ist die gegenläufige Entwicklung von Lymphoblasten und Immunoblasten. Parallel zum Absinken der ersten Gruppe erreicht die zweite ihre maximale Entfaltung. In Versuch 10 - hier fallen die Lymphoblasten nur sehr allmählich - zeigen die Immunoblasten den spätesten Häufigkeitsgipfel aller Versuche, nämlich am 7. Tag.

Versuch 11, Abb. 15, Tab. 13, Grundkrankheit: chron. lymphatische Leukämie, zeigt kaum eine Stimulation der Lymphocyten. Die P-Werte sind demgemäß nicht signifikant.

Beim 12. Versuch (Abb. 16, Tab. 14) findet sich das seltene Blutbild der Erythrämie. Die Immunoblasten zeigen am 2. und 3. Tag einen Anstieg bis auf 7,5%, deutlich mehr als im parallel laufenden Kontrollversuch (0,5%), aber auch wesentlich weniger als bei den meisten übrigen Versuchen mit Pfeifferserumzusatz. Das Ergebnis ist nicht signifikant.

Eine detaillierte Einzelbeschreibung der 5 Fremdserumversuche erscheint wenig ergiebig. Eine Gesamtbetrachtung dieser Versuchsgruppe erfolgt auf Seite 45.

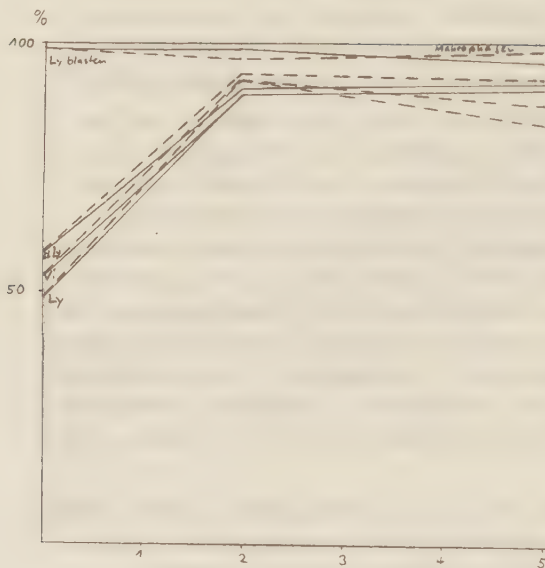
Immunoblasten finden sich bei Versuch Nr. 13, 14 und 15 (Abb. 17, 18, 19, Tab. 15, 16, 17) in einer Streubreite bis 2 Prozent, unabhängig vom Serumzusatz. Versuch 16, Abb. 20, Tab. 18) weist am sechsten Kulturtag 4% Immuno-

CHARLOTTE G.

AKUTE LYMPH. LEUKÄMIE

64 Jahre

Versuch Nr. 13



Zeichenerklärung
s. S. 22

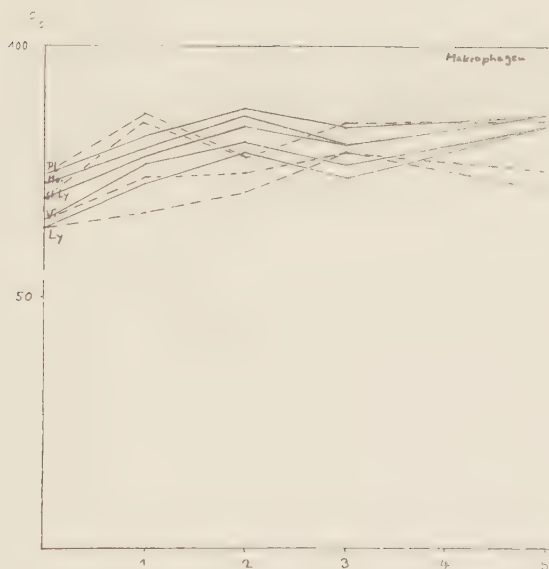
Abb. 17

KONTROLLVERSUCH

FREMDSERUM

Kulturzeit (d)	0	2	5	0	2	5
Lymphocyten	49	90	91	49	92,5	84
Virocyten	3	-	-	3	-	3
stim. Lymphoc.	6	1	0,5	6	1	5
Promonocyten	0,5	-	-	0,5	-	-
Monocyten	-	-	-	-	-	-
Immunoblasten klein	-	-	1	-	1	-
Immunoblasten groß	-	-	-	-	-	-
Plasmazellen	-	-	-	-	-	-
Reticulumzellen	0,5	-	-	0,5	1	1
Makrophagen	1,5	1	4,5	1,5	2	1,5
Lymphoblasten	39,5	8	3	39,5	2,5	5,5

Tab. 15



Zeichenerklärung
s. S. 23

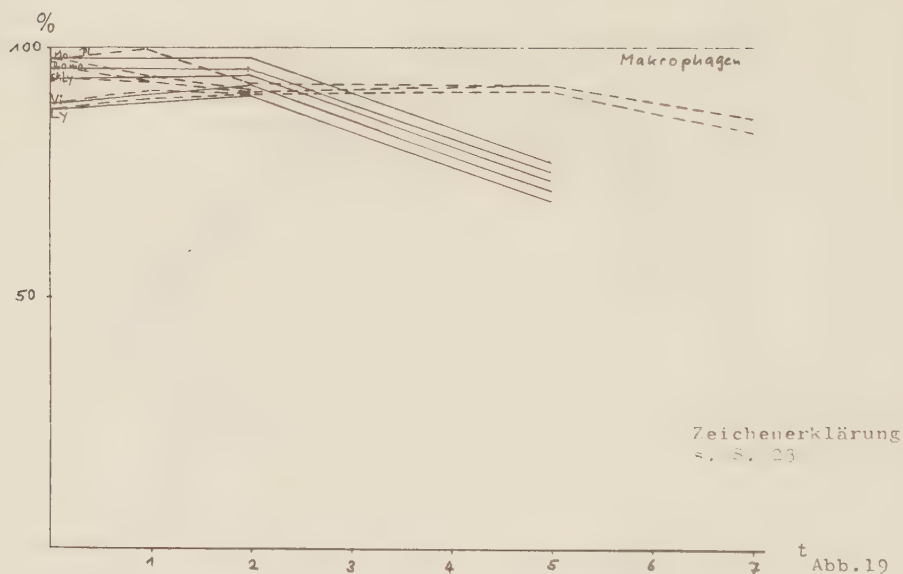
Abb. 18

KONTROLLVERSUCH						FREMDSERUM					
Kulturzeit (d)	0	1	2	3	5	0	1	2	3	5	
Lymphocyten	64	73	79,5	74	84	64	67	71	79,5	72	
Virocyten	1,5	4	1	2,5	-	1,5	7	4	-	3	
stim. Lymphoc.	5,5	1,5	3	4	2	5,5	9	3	5	10	
Promonocyten	1	1	0,5	0,5	-	1	1	-	0,5	-	
Monocyten	2,5	2	0,5	0,5	-	2,5	-	-	-	-	
Immunoblasten klein	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	
Immunoblasten groß	-	-	-	1	-	-	-	0,5	-	1	
Plasmazellen	1,5	2	1	2,5	-	1,5	1	-	0,5	-	
Reticulumzellen	3	-	-	-	-	3	1	-	-	-	
Makrophagen	21	16,5	13,5	14		21	12	21,5	14,5	14	

BERND-M. II.
KEIN BEFUND
26 Jahre

- 38 -

Versuch Nr. 15



KONTROLLVERSUCH

FREMDSERUM

Kulturzeit (d)	0	2	5	0	1	2	5	7
Lymphocyten	88	91	70	88	90	91	92,5	83
Virocyten	1	2	1,5	1	1	-	-	-
stim.Lymphocyten	5	1	1,5	5	2,5	-	1	3
Promonocyten	2	1	1	2	-	-	-	-
Monocyten	2	2	2	2	0,5	1	-	-
Immunoblasten klein	-	0,5	-	-	-	1	0,5	-
Immunoblasten groß	-	-	1,5	-	-	-	1	2
Plasmazellen	-	-	-	-	6	4	-	0,5
Reticulumzellen	1	-	-	1	-	-	-	-
Makrophagen	1	2,5	22,5	1	-	3	5	11,5

Tab. 17

MARIANNE K.

- 29 -

ANAMIE

Versuch Nr. 16

33 Jahre

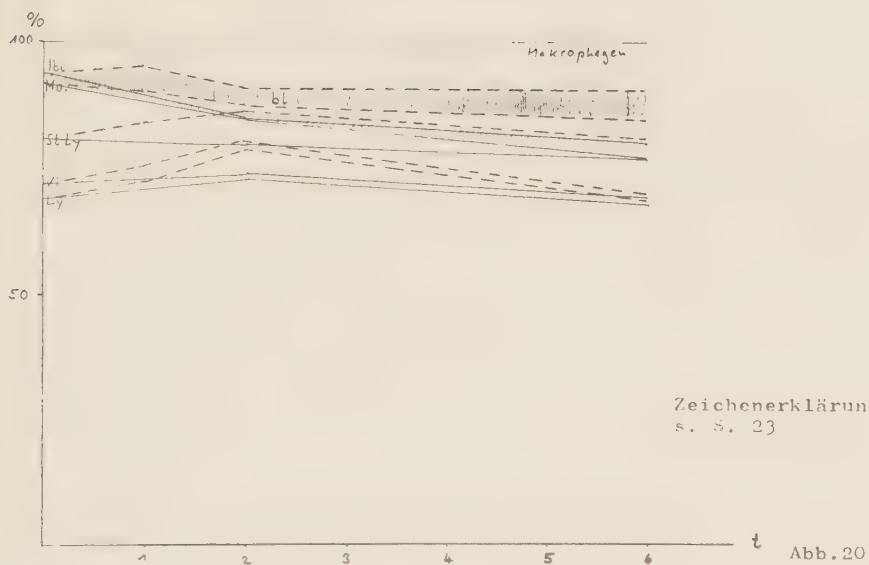


Abb. 20

KONTROLLVERSUCH

FREMDSERUM

Kulturzeit (d)

0 2 6

0 1 2 6

Lymphocyten	69	73	68	69	72	78	68
Virocyten	3	1	1	3	3	1	1
stim.Lymphoc.	9	6	8	9	8,5	7	11,5
Promonocyten	2,5	-	-	2,5	1,5	-	-
Monocyten	11,5	5	-	11,5	7	1	3
Immunoblasten klein	2	-	3	2	5	3	3
Immunoblasten groß	-	-	1	-	-	-	5
Plasmazellen	-	-	-	-	-	1	-
Reticulumzellen	1	1	-	1	-	-	-
Makrophagen	2	14	19	2	3	9	8,5

Tab. 18

IRMGARD H.
ADIPOSITAS
43 Jahre

- 40 -

Versuch Nr. 17



Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb.21

KONTROLLVERSUCH

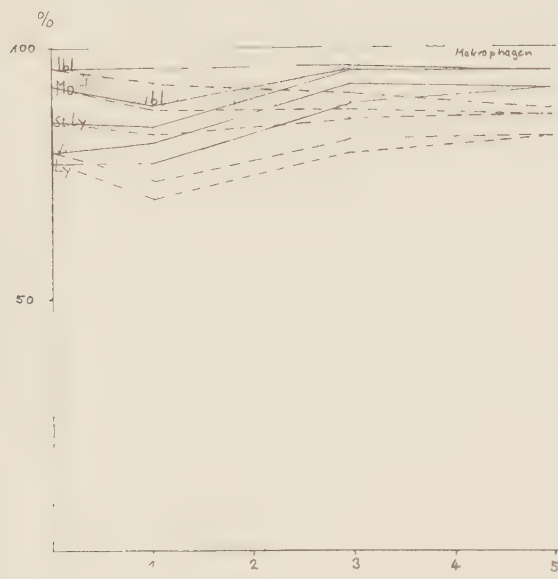
FREMDSERUM

Kulturzeit (d)	0	1	2	3	0	1	2	3
Lymphocyten	83	75	81	67	83	87	80	47
Virocyten	2	2	3	-	2	-	-	1
stim.Lymphoc.	5,5	12	2	-	5,5	-	4	5
Promonocyten	1,5	-	-	-	1,5	-	-	-
Monocyten	6	3	-	-	6	-	-	-
Immunoblasten klein	2	4	-	-	2	3	2	-
Immunoblasten groß	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Plasmazellen	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Reticulumz.	-	-	-	-	-	1	1	1,5
Makrophagen	-	4	13,5	33	-	9	12	45

Tab. 19

GRETE H.
LYMPHOSARKOM
81 Jahre

Versuch Nr. 18



Zeichenerklärung
s. S. 23

Abb.22

KONTROLLVERSUCH					FREMDSERUM			
Kulturzeit (d)	0	1	3	5	0	1	3	5
Lymphocyten	77	76,5	89	92,5	77	70	79	82
Virocyten	2	4	3	-	2	3,5	2,5	-
stim.Lymphoc.	6	2	3	2,5	6	9,5	3,5	4
Promonocyten	3	-	-	-	3	0,5	-	-
Monocyten	7	5,5	-	-	7	4,5	1	-
Immunoblasten klein	3	6	-	-	3	4	1	-
Immunoblasten groß	-	2	1	-	-	1	2	1
Plasmazellen	-	-	-	-	-	-	-	1
Reticulumzellen	1	1	-	-	1	1	-	-
Makrophagen	1	3	4	5	1	6	11	12

Tab. 20

blasten in der Kontrolle und 8% bei Fremdserumzusatz auf. Erwähnenswert sind auch die relativ hohen Prozentsätze stimulierter Lymphocyten, die beide Kulturen aufweisen.

Versuch 17 (Abb. 21, Tab. 19) zeigt ebenfalls bei Serumzusatz und Kontrolle Immunoblasten bis 4%. Am interessantesten vielleicht das Ergebnis von

Versuch 18 (Abb. 22, Tab. 20): Am 1. Versuchstag sind die Immunoblasten mit 5% im Fremdserumversuch und 8% am gleichen Tag in der Kontrolle vorzufinden. Die Patientin Grete H. ist mit der von Versuch 7 (Abb. 11, Tab. 9) identisch.

5. Prozentuale Verteilung der Zellen in den Kulturen

Zuerst seien die Pfeifferserumversuche in Verbindung mit den dazugehörigen Kontrollversuchen betrachtet. Der normale Lymphocyt zeigt in der Kultur mit Pfeiffer-Zusatz ein recht konstantes Verhalten. Im Originalpräparat mit der Kulturzeit 0 stellt er mit etwa 60-80% aller Zellen die stärkste Fraktion⁺⁾ Er hat eine gut erkennbare Struktur, und in Abhängigkeit des ihn umgebenden Plasmasaumes erkennt man größere und kleinere Formen. Schon am ersten Kulturtag zeigt sich eine deutliche Verringerung der zu beobachtenden Lymphocyten um etwa 10 bis 20%. Eine Verschiebung zu der größeren Zellform mit vermehrtem Cytoplasma stellt ein oft beobachtetes Phänomen in stimulierten Kulturen dar. Diese Tendenz setzt sich bis zum zweiten Kulturtag fort, an dem bei fast jedem Versuch der Tiefpunkt der Lymphocytenkurve erreicht ist. Zum dritten Tag bewegt sich die Kurve im etwa gleichen Prozentbereich, teilweise mit geringen Abweichungen nach oben und unten. Die Lymphocyten haben aber wieder eine zunehmende Tendenz zu den kleineren Formen mit schmalem Plasmahof und dichtem Kern. Den fünften Tag erlebt ein Drittel aller Pfeifferserumkulturen nicht mehr. Bei den verbliebenen Kulturen setzt sich eine schwach fallende Tendenz der Lymphocytenfraktion durch, die sich

⁺⁾ mit Ausnahme der Granulocyten.

dann am siebenten Tag auf die Hälfte des im Originalpräparat verzeichneten Anteils verringert. In diesem Stadium scheint das Cytoplasma wie eine schmale Sichel an den dunklen Lymphocytenkern gepreßt.

Virocyten finden sich in allen Originalpräparaten. Sie stellen mit etwa 3% eine recht konstante Zellgruppe dar, was sich sowohl auf die Häufigkeit ihres Auftretens als auch auf die Morphologie bezieht. Auflockertendenzen in Kern und Plasma konnten bei ihnen nie beobachtet werden.

Die stimulierten Lymphocyten sind schon im Originalpräparat festzustellen und größenordnungsmäßig den Virocyten am Kulturbeginn vergleichbar. Sie gehen aus den Auflockertendenzen der Lymphocytenkernstruktur am ersten Tag hervor. Auffällig wird diese Gruppe aber am ersten Tag und wächst dann bis zum zweiten Tag kontinuierlich auf etwa 20% der gezählten Zellen. Bis zum dritten Tag bleibt der Prozentsatz konstant oder ist nur wenig verringert. Läßt sich die Kultur noch länger beobachten, so sieht man die stimulierten Lymphocyten linear abnehmen, um dann am 7. Tag nur sehr vereinzelt aufzutreten.

Die letzte und wichtigste Zellgruppe lymphoiden Ursprungs sind die

Immunoblasten (s. Übers. Tabelle 21, Seite 47)

Betrachtet man die kleinen und großen Immunoblasten als homogene Gruppe, wie das bei den Graphiken geschieht, so ergibt sich folgendes Bild: Ihr spontanes Auftreten am Kulturbeginn hat Zufallscharakter. Es resultieren Prozentsätze zwischen 0 und 3%. Aber schon am ersten Tag zeigen 5 Kulturen mehr Immunoblasten als stimulierte Lymphocyten; sechs andere liegen noch unterhalb dieser Marke. Am zweiten Tag ist die Vermehrung der Immunoblasten in den Pfeifferserumversuchen beträchtlich und übertrifft in fünf Kulturen die 20%-Grenze. Bis zum dritten Tag gibt

es in einzelnen Fällen noch Steigerungen, die aber nur noch wenige Prozente betragen. Der Mittelwert der maximalen Stimulation liegt am 3. Tag bei 24% Ibl.

Betrachtet man nun die Verteilung von großen und kleinen Blastenformen, so kann man feststellen, daß die kleinen immer vorangehen. Das heißt, die kleinen Ibl sind bevorzugt am ersten, zweiten und noch am dritten Kulturtage in großer Zahl zu finden; die größeren mit dem oft vakuolisierten Plasma und stark netzigem Kern bestimmen vom dritten Tag an das Bild. Bis zum siebenten Tag sind sie nachweisbar, wenn die Kultur eine Beobachtung erlaubt, allerdings nun in einer Häufigkeit von nicht mehr als 8% der Gesamtzahl.-

Promonocyten und Monocyten finden sich nicht öfter als in den Kontrollkulturen. Besonders die Promonocyten sind eine Rarität und kommen nur ganz vereinzelt vor (weniger als 1%).

Reticulumzellen und Plasmazellen zeigen ebenfalls nur ein sporadisches Auftreten. Auffällig verhält sich die Fraktion der

Makrophagen. Sie vermehren sich parallel zur Abnahme der Monocyten. Schon im Originalpräparat sind sie zu finden, aber erst am dritten Tag überschreiten sie die 10%-Grenze (mit einer Ausnahme). Bei genügend langer Lebensdauer der Kultur stellen die Makrophagen am 7. Tag oft mehr als ein Drittel der differenzierten Zellen. -

Abschließen sei noch die Gruppe der

Lymphoblasten erwähnt, die im Zusammenhang mit einer akuten lymphatischen Leukämie gehäuft auftreten (Abb. 13 u. 14, Tab. 11 u. 12). Die höchsten Prozentzahlen (47%) finden sich am ersten, zweiten und dritten Tag, gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall gegen Ende der Kultur. Parallel dazu zeigen die Immunoblasten einen Anstieg und erreichen in einem der beiden Fälle erst am 7. Tag ihre maximale Häufung von 46%.

Die zum Vergleich nebenher laufenden

Kontrollversuche zeigen im Verhalten der Zellpopulationen zueinander teilweise deutliche Abweichungen vom Pfeiffer-serumversuch. Die Lymphocytenzahlen steigen (mit einer Ausnahme) kontinuierlich an und liegen zum Ende der Beobachtungszeit deutlich über den Prozentzahlen des Originalpräparats. Eine relative Zunahme der kleinen gedrunge-nen Lymphocyten am fünften und siebenten Tag ist festzu-stellen.

Die Virocyten sind in ihrem Verhalten im wesentlichen un-verändert und ohne Auffälligkeiten. Stimulierte Lympho-cyten treten nur bis zur Größenordnung von 10% mit deut-lichem Unterschied zur Pfeifferkultur auf. Sie folgen ohne Häufigkeitsgipfel der Lymphocytenkurve parallel. Immunoblasten zeigen sich sporadisch bis zum dritten Tag mit kaum mehr als 5%. Promonocyten, Monocyten, Plasma- und Reticulumzellen zeigen gleiche Häufigkeitsverteilun-gen wie bei den Pfeifferserumversuchen. Die Fraktion der Makrophagen zeigt besonders im Kulturverlauf über längere Zeit starke Unterschiede. In drei Fällen liegt ihr Pro-zentsatz unter dem beim Pfeifferversuch vermerkten; in vier weiteren Fällen ist der Unterschied geringer. Bei den übrigen zeigen sich kaum Differenzen, was an dem kür-zeren Beobachtungszeitraum liegen mag.

Die Fremdserumversuche (Abb. 17-22, Tab. 15-20) zeigen Verlaufskurven, die weitgehend den eben beschriebenen Kontrollversuchen entsprechen. Von einer detaillierten Beschreibung der einzelnen Zellgruppen und ihren Bewe-gungen im Diagramm wird deshalb abgesehen. Unterschiede zu den Kontrollversuchen fallen nicht auf. Hinweise auf vermehrte Transformation der Lymphocyten und Immunobla-stenbildung finden sich nicht. Der Mittelwert der jeweils stärksten Blastenbildung in den einzelnen Kulturen liegt mit 3.3% Ibl am 3. Tag (s.Tab. 21). Die Kultivierung ge-lang durchschnittlich fünf Tage.

6. Zusammenfassung der Ergebnisse

Tabelle 21 gibt einen Überblick über die Stärke der Stimulation an den einzelnen Kulturtagen bei den verschiedenen Serumzusätzen. Das durchschnittliche Maximum der Immunoblastenprozente findet sich beim Pfeifferserum- und Fremdserumversuch am 3. Tag und liegt unter Einfluß von Mononucleoseserum bei 24%. Bei den Fremdserumversuchen beträgt die durchschnittliche Immunoblastenrate am 3. Tag 3.3%. Die Immunoblastenprozente der Kontrollversuche entsprechen denen der Fremdserumversuche.

Fast alle Kulturen konnten an den ersten drei Tagen beobachtet werden. Nur die Hälfte von ihnen wies eine ausreichende Zahl lebender Zellen am 5. Tag auf; am 6. und 7. Tag fanden sich noch in knapp 17% der Kulturen Bedingungen, bei denen die Ausstrichpräparate der Stichproben noch eine Zelldifferenzierung zuließen.

ÜBERSICHT ÜBER % Ib1 und MITTELWERT

		P F E I F F E R S E R U M :								
			%	Ib1	am	TAG				
Nr.	N A M E	DIAGNOSE	0	1	2	3	4	5	6	7
1	BERND-M. H.	kein Befund	-	36	42	42				
2	BIANKA M.K.	kein Befund	-	14	31	15				
3	HILDEG. B.	Colitis ulc.	1	17	21	13				
4	MARIANNE K.	Anämie Fe-Mangel	2	17		29			19	6
5	ANNELIESE A.	Tuberkulose	4	13		14		8		
6	SELMA H.	Herzinsuffiz.	1	5	5	1				
7	GRETE H.	Ly Sa	5	20	16	21		6		
8	ERIKA D.	Plasmocytom	-	28	16		29		3	
9	CHARL. G.	ALL	-	-	29			3		
10	CHARL. G.	ALL	-		1	6		25		46
11	HERMANN M.	CLL	2	3		5		2		
12	MARTHA L.	Erythrämie	1		7	6		1		
MITTELWERT:			24 % Ib1		am	3. TAG				
			%	Ib1	am	TAG				
F R E M D S E R U M			0	1	2	3	4	5	6	7
13	CHARL. G.	ALL	-		1			-		
14	MARIANNE P.	Sarkom	-	-	1	-		1		
15	BERND-M.H.	kein Befund	-	-	1			2		2
16	MARIANNE K.	Anämie Fe-Mangel	2	5	3				8	
17	IRMGARD H.	Adipositas	2	3	2	-				
18	GRETE H.	Ly Sa	3	5		3		1		
MITTELWERT:			3.3% Ib1		am	3. TAG				

Tab. 21: Übersicht über alle Versuche mit Pfeiffer/Fremdserumzusatz.
Prozente der IMMUNOBLASTEN (Ib1) an den einzelnen Tagen
und MAXIMA der Stimulation.

V. DISKUSSION

Die vorliegenden Versuche an Leukocyten-Kulturen mit verschiedenen Serumzusätzen hatten das Ziel zu ergründen, ob Serum von an Mononucleose Erkrankten Veränderungen der Lymphocyten bewirkt und welcher Art diese Transformation ist. SEIFERT (1975) stellt bei Versuchen mit Mononucleoseserum am normalen Knochenmark fest, daß die Monopoesen relativ vermehrt wird. Bei unseren Versuchen an Blutzellen kann festgestellt werden, daß das gleiche Serum in vitro eine Stimulation der Lymphocyten bewirkt, die im Mittel am dritten Tag mit 24% Immunoblasten ihren Höhepunkt findet. Die Morphologie des stimulierten Lymphocyten, der Übergangsform zwischen den unstimulierten Lymphocyten und den Immunoblasten, zeigt große Ähnlichkeit mit den Lymphoidzellen wie sie typischerweise beim Morbus Pfeiffer im peripheren Blut auftreten. Wenn nur 10% des verwendeten Mediums durch anderes Serum ersetzt wird, das von an infektiöser Mononucleose erkrankten Patienten gewonnen und gefroren konserviert wurde, so tritt die beschriebene Strukturveränderung der Lymphocyten in signifikanter Häufigkeit auf.

Kontroll- und Fremdserumversuche lassen mit 3.3% Immunoblasten am dritten Tag nicht den Gedanken an Transformationsvorgänge aufkommen, die durch andere Faktoren induziert sein könnten. ASTALDI et al. (1973) berichtet zwar über eine Stimulation der Lymphocyten in Blutkulturen, die allein durch gereinigtes Wachstumshormon hervorgerufen wurden. Die Prozente blastoider Zellen bewegten sich zwischen 1% und 15% in Abhängigkeit von der Dosis des Hormons. Das bei unseren Kulturen gebrauchte verstärkte Corhormon^R sollte ebenfalls dazu dienen, die Überlebensbedingungen der Lymphocyten in vitro zu verbessern. Eine ähnlich mitogene Wirkung wie bei dem von ASTALDI gebrauchten Präparat konnte durch unsere Kontrollversuche nicht bestätigt werden. Sollten von dem Corhormon^R allerdings Ein-

flüsse auf die Lymphocyten im Sinne einer Transformation ausgeübt werden, so liegen sie - wie Kontroll- und Fremdserumversuch zeigen - in einer Größenordnung von weniger als 5%. Das entspräche den Versuchen ASTALDIS mit Wachstumshormon in geringen Dosen, die Stimulationsraten bis 5% ergaben.

Wie schon eingangs erwähnt, ist der mitogene Faktor der Mononucleose als nicht zellgebundener Körper im Serum manifest Erkrankter zu vermuten. Die vorliegenden Ergebnisse scheinen diese Annahme zu bestätigen. Kann man nun ein spezielles Agens, das durch das Pfeifferserum übertragen wurde, für die beobachtete Reaktion an den normalen Lymphocyten verantwortlich machen? Ist eine Übertragung des Epstein Barr-Virus mit dem Serum denkbar, durch das dann die Transformation der Lymphocyten eingeleitet wird?

Versuche von ANDREWS et al. (1973) hatten zum Ergebnis, daß der Rachenabstrich akut an Mononucleose Erkrankter, übertragen auf normale Lymphocytenkulturen, nach wenigen Tagen zur Bildung atypischer mononucleärer Zellen Anlaß gibt. Antiserum gegen EB-Virus unterdrückt diese Reaktion. Ein oraler Kontaminationsmodus, gegebenenfalls mit Virusübertragung, wird diskutiert.

SEIFERT kommt 1975 zu dem Ergebnis, daß die Übertragung von EB-Virus, enthalten in Serumproben Mononucleosekranker, in vitro als wahrscheinlich gelten darf. NIEDERMAN stellte dagegen 1968 fest, daß die Übertragung von Mononucleose von einem Erkrankten auf einen anderen noch nicht kontaminierten mit Serum, Blut oder Stuhlproben ausschließlich negative Ergebnisse hatte. Ein positives in vivo-Experiment wird hingegen schon von WISING (1942) berichtet, der mit der Transfusion von 250 ml Frischblut eines Pfeifferkranken in einem Fall typische klinische und hämatologische Symptome induzieren konnte. Ebenso werden einzelne Fälle beschrieben, bei denen es nach

Bluttransfusionen innerhalb von 2-3 Wochen zum typischen Bild des Morbus Pfeiffer gekommen ist. Spezifische Antikörper gegen Epstein Barr-Virus konnten dabei im Serum nachgewiesen werden (MILLER, WATSON et al. 1971). 1960 äußerte HOAGLAND aufgrund epidemiologischer Studien die Vermutung, daß die Kontagiosität des Morbus Pfeiffer im wesentlichen auf enge orale Berührungspunkte beschränkt bleibt.

Aufgrund der Erkenntnisse von NIEDERMAN u. ANDREWS ist es am wahrscheinlichsten, daß in vivo und in vitro die Transformation der Lymphocyten nicht unmittelbar durch den Einfluß des EB-Virus hervorgerufen wird, sondern auf dem Weg noch nicht bekannter Mediatoren. Die Untersuchungen von DIEHL 1968 und MOSES 1968 zeigen, daß es bei der Übertragung von - bekanntlich zellfreiem - Serum nicht zur Kontamination der Leukocytenkultur mit EB-Virus kommt. LAWRENCE und VALENTINE (1969) weisen auf die Wahrscheinlichkeit bestimmter Überträgersubstanzen, Mediatoren genannt, hin, z.B. den Lymphocyten transformierenden Faktor (LTF). Diese Mediatoren induzieren erst auf einen antigenen Reiz hin die immunologische Antwort der Lymphocyten, und zwar bei spezifischer und bei unspezifischer Stimulation. So ließe es sich erklären, daß der Morbus Pfeiffer nicht durch Blut oder Serum von Mensch zu Mensch übertragen werden kann (abgesehen von einigen Einzelfällen bei Transfusionen, also größeren Blutmengen). Eine Transformation peripherer Lymphocyten mittels Serum ist in vitro aber möglich, wie es die Versuche 1 bis 12 erkennen lassen, weil die übertragenen Mediatoren in der Lage sind, die Lymphocyten in vitro zu stimulieren.

Wie bereits erwähnt, unterscheidet man zwei Reaktionsformen der Lymphocyten auf einen entsprechenden Reiz, die beide zu dem Ergebnis blastoider Zellformen führen: die spezifische und die unspezifische Stimulation. Da in unseren Kulturen Immunoblasten in signifikanter Menge

festgestellt werden konnten, stellt sich die Frage nach dem hier vorliegenden Reaktionstyp.

Die spezifische Stimulation setzt einen früheren Kontakt mit dem entsprechenden Agens voraus, in unserem Fall also eine zurückliegende Erkrankung an Mononucleose. Die anamnestischen Angaben der ausgewählten Patienten können nur bedingt als gesichertes Kriterium gelten, da es Infektionen ohne die typische Symptomatik gibt und die Erkrankung oft als Angina simplex verkannt wird. Es ist also möglich, daß die beobachtete Stimulation als Reaktion sensibilisierter Lymphocyten auf das spezifische Agens aufgefaßt werden kann, also eine spezifische Stimulation vorliegt. Dafür spräche die stärkere Stimulation der Lymphocyten bei jüngeren Probanden, bei denen eine frühere Erkrankung an Pfeifferschem Drüsenfieber erst vor relativ kurzer Zeit stattgefunden haben könnte.

Ein anderes charakteristisches Unterscheidungsmerkmal bei der Reaktionsformen ist der Zeitpunkt und die Stärke der immunologischen Antwort (G.BRITTINGER, 1972). Bei der spezifischen Reaktionsform dauert es nach LAWRENCE, 1969, bis zu fünf Tagen, ehe es zu einer optimalen Häufung von Immunoblasten kommt. Die unspezifische Reaktion tritt schon zwischen dem 2. und 4. Tag auf mit Stimulationsraten bis zu 60% und übertrifft damit auch quantitativ die spezifische Stimulation (ASTALDI, 1966). Der Zeitpunkt der maximalen Stimulation (3. Tag) spricht also eher für eine unspezifische, die Höhe der durchschnittlich maximalen Immunoblastenrate (24%) für eine spezifische Reaktion.

Im Verlauf des typischen Morbus Pfeiffer treten im peripheren Blut atypische mononucleäre Zellen auf, die den von uns in vitro beobachteten stimulierten Lymphocyten entsprechen. In vivo kommt es zur Stimulation nach erstmaligem Kontakt mit dem Agens - vermutlich dem EB-Virus - also unspezifisch. Wenn also das gleiche Agens, das in vivo atypische mononucleäre Zellen als Folge einer unspe-

zifischen Reaktion bewirkt, in vitro ebenfalls blastoide stimulierte Lymphocyten induziert, so ist zu vermuten, daß in beiden Fällen ein gleicher Reaktionstyp vorliegt: eine unspezifische Stimulation.

Die letzte Frage, die mit Hilfe der gewählten Versuchsanordnung geklärt werden sollte, ist die nach der Vergleichbarkeit der Wirkung von Phytohämagglutinin und Mononucleosenserum auf Lymphocyten. Zur Beantwortung dieser Frage scheint es notwendig, die Unterschiede im Reaktionsverhalten der einzelnen Kulturen und die Verschiedenheiten der jeweiligen Serumspender im einzelnen zu betrachten.

Die Versuche Nr. 1 bis 6 zeigen Parallelen, die eine Zusammenfassung zu einer Gruppe gestatten. In fünf Fällen (Nr. 1 - 5) finden sich signifikante Stimulationsraten zwischen 14 und 42%. Davon sind Nr. 1 und 2 ohne jeden klinischen Befund und weisen mit 31 und 42% die höchsten Blastenraten auf. Von Interesse scheint in diesem Zusammenhang, daß die Versuchsperson der ersten Kultur und der Verfasser identisch sind, und daß in diesem Fall eine frühere Erkrankung an Morbus Pfeiffer mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, nicht jedoch eine Kontamination oder stille Feiung. Nr. 3 bis 6 weisen Grundkrankheiten auf, bei denen ein Einfluß auf die Blastenbildung als sehr unwahrscheinlich gelten darf. Einzig Versuch Nr. 6 (Selma H., 84 Jahre), zeigt keine Anzeichen einer Stimulation. Es wäre denkbar, daß das hohe Alter der Patientin hier eine Rolle spielt.

Die Versuche Nr. 7 bis 12 erlauben wieder eine Zusammenfassung zu einer Gruppe, da hier bei allen Versuchspersonen Grundkrankheiten aus dem hämatologischen Bereich vorliegen und deshalb in jedem Fall ein spezifischer Einfluß auf das Versuchsergebnis diskutiert werden muß. Der Versuch Nr. 7 (Grete H., 81 Jahre, 21% Ibl am 3. Tag) läßt keine Anzeichen einer durch die Grundkrankheit (Lympho-

sarkom) oder das hohe Alter eingeschränkten Stimulationsfähigkeit der Lymphocyten erkennen. Auffällig ist im Gegenteil der hohe Prozentsatz von 8% Ibl am entsprechenden Tag des Kontrollversuchs - der höchste Prozentsatz aller Stichproben aus den Kontrollversuchen zu den Pfeiffer-serumversuchen. Die gleiche Patientin tritt noch einmal bei Versuch Nr. 18 mit Fremdserumzusatz in Erscheinung. Wieder finden sich im Kontrollversuch 8% Ibl, im Fremdserumversuch 5%, deutlich über dem Mittelwert dieser Versuchsreihe (3.3%). Schon im 0-Stunden-Präparat wurden 5% Immunoblasten festgestellt. Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, daß hier eine Spontanstimulation vorliegt, die das Ergebnis beeinflußt. CHANG, GOLDEN u. BLANKENSHIP berichten 1972 über mehrere Fälle solcher spontanen Transformation peripherer Lymphocyten in vitro. Eine Erklärung dieses Phänomens geben sie nicht. Ein antigener Reiz kann vermutet werden, der sich aus dem Grundleiden der Versuchsperson ergibt.

Der Versuch Nr. 8 entspricht mit 21% Ibl am 3. Tag etwa dem Durchschnitt. Bei der 34-jähr. Patientin wurde die Diagnose Plasmocytom gestellt. Hinweise auf ein vermehrtes Auftreten von Immunoblasten bei dieser Erkrankung waren in der Literatur nicht zu finden.

Die Versuche Nr. 9 und 10 zeigen signifikante Immunoblastenraten bei akuter lymphatischer Leukämie (ALL). Untersuchungen mit Phytohämagglutinin bei ALL zeigen dieselben hohen Stimulationsraten, wie sie auch eine Kontrollgruppe mit normalen peripheren Lymphocyten unter gleichen Bedingungen aufwies (KOURILSKY et al. 1966). Eine mitogene Aktivität ist bei Kindern im Serum der ALL nicht nachweisbar (ASTALDI et al. 1966). LING vermutet (1968), daß neben der Gruppe großer blastoider Lymphocyten, die für diese Krankheit als pathognomonisch gelten können, eine weitere Gruppe kleiner, normal reagierender Lymphocyten existiert. Das erkläre die normale Reaktion auf Phytohä-

magglutinin und damit ebenso auf Mononucleoseserum.

Fremdserumzusatz zu einer Blutkultur von der gleichen Patientin (Versuch 13) hat keine Stimulation zur Folge. (1% Ibl).

Der Versuch Nr. 11 (Grundkrankheit: chronisch lymphatische Leukämie) läßt nur 5% Immunoblasten erkennen. SCHREK und RABINOWITZ zeigten 1963, daß periphere Lymphocyten von Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie in vitro durch Phytohämagglutinin nicht in gleicher Weise zu stimulieren sind wie bei gesunden Versuchspersonen. ASTALDI fand 1966 auch nur 7-15% Immunoblasten in diesen Kulturen, verglichen mit 60-68% in Normalkulturen mit Phytohämagglutinin. Die große Zahl kleiner Lymphocyten, die zu einer normalen immunologischen Antwort nicht mehr fähig sind, kennzeichnet die CLL. Eine Stimulation ist also weder durch Phytohämagglutinin noch durch Pfeifferserum zu induzieren.

Der Versuch Nr. 12 weist nur 7,5% Immunoblasten in der Leukocytenkultur auf. Es ist der dritte Versuch, bei dem die Stimulationsrate unterhalb der Signifikanzschwelle bleibt. Ursächlich käme hier wieder die Grundkrankheit, eine Erythrämie, in Betracht. Die maligne Proliferation von Erythropoese und teilweise auch Granulopoese könnte die Ansprechbarkeit des immunologischen Systems verringern. Bei Kulturbeginn waren nicht mehr als 12% Lymphocyten zu verzeichnen. So mußte auch die Immunoblastenrate gering bleiben.

Die Ergebnisse der Pfeifferserumversuche bestätigen erneut die These von KLIMA (1953), daß es sich bei den atypischen mononucleären Zellen des Morbus Pfeiffer "lediglich um gereizte und ungewandelte Lymphocyten handelt." INMAN u. COOPER (1963) und SPRIGGS u. JEROME (1967) bewiesen elektronenmikroskopisch die gleichen Strukturen in Pfeifferzellen in vivo und Phytozellen

in vitro. Auch die in vitro durch Pfeifferserum transformierten Lymphocyten zeigen in ihrem Verhalten und in der Morphologie Parallelen zur Phytozelle; sie sind ebenfalls Reizformen der lymphatischen Zellen, hervorgerufen durch den Morbus Pfeiffer. Phytohämagglutinin und Mononucleosenserum sind in ihrer Wirkung auf periphere Lymphocyten in vitro vergleichbar und austauschbar. Die Stimulationsrate fällt bei Zusatz von Pfeifferserum allerdings niedriger aus als bei Phytohämagglutinin. Der Anteil der großen Immunoblasten liegt bei der Phyto- kultur ebenfalls höher als bei den vorliegenden Versuchen mit Mononucleosenserum.

Die 84-jährige Selma H. zeigt keine Reaktion der Lymphocyten auf Mononucleosenserum. Aufgrund des hohen Alters kann eine anerge Reaktionslage bei sehr lange zurückliegender Sensibilisierung angenommen werden. Die vorliegenden Versuche zeigen aber auch bei anderen Probanden eine Beziehung zwischen Alter und Reaktionsbereitschaft der Lymphocyten. Die folgenden Überlegungen versuchen eine Erklärung dafür zu finden.

Das gesamte lymphatische System ist einer gewissen Altersinvolution unterworfen. Die Tonsillen zeigen bei Kindern eine starke Reaktionsbereitschaft. Der Thymus ist im Greisenalter kleiner als zur Zeit der Geburt und der Anteil des lymphatischen Gewebes an der Milz sinkt mit zunehmendem Lebensalter von 35% auf 15% (BEGEMANN). Deshalb sind auch akute Erkrankungen, die aus diesem lymphatischen Gewebe unmittelbar hervorgehen, oft an die ersten Lebensjahrzehnte gebunden. Der Morbus Pfeiffer tritt ebenfalls bevorzugt bei jüngeren Patienten auf, mit einem Häufigkeitsgipfel etwa im 20. Lebensjahr (COLLUM, EVANS, NIEDERMAN, 1968). Die relativ geringere Transformierbarkeit der Lymphocyten älterer Patienten könnte eine Erklärung dafür sein, daß die Mononucleose eine deutliche Bevorzugung der ersten Lebensjahrzehnte zeigt. Nur

solange der Organismus zu einer heftigen Reaktion und Proliferation aller lymphoreticulären Organe, besonders Lymphknoten, Milz, Knochenmark und teilweise auch Leber befähigt ist, kommt es zur typischen Ausprägung des Morbus Pfeiffer. Auch in vitro könnte abhängig vom Lebensalter die Fähigkeit zur immunologischen Antwort auf Pfeifferserum herabgesetzt sein.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wird die Wirkung von Serum mononucleosekranker Patienten (10% des Mediums) auf 12 Leukocytenkulturen anderer Probanden in vitro geprüft, die teils ohne hämatologisch relevanten Befund teils Träger einer hämatologischen Erkrankung waren. 12 Kontrollversuche, weitere Versuche mit Zusatz von Serum nichtmononucleosekranker Patienten (Fremdserum) und 6 dazugehörige Kontrollversuche wurden mit dem gleichen Patientenkollektiv durchgeführt. Den Kulturen wurden wenigstens an drei, maximal an sieben Tagen Stichproben entnommen und Ausstriche angefertigt. Bei Zusatz von Pfeifferserum konnte eine Transformation der Lymphocyten zu stimulierten Zellformen und Immunoblasten festgestellt werden. Das Maximum lag durchschnittlich am 3. Tag mit 24% Ibl. 9 von 12 Kulturen zeigten eine signifikante Vermehrung der Immunoblasten gegenüber den Kontrollversuchen. Die Kulturen, denen Serum anderer, nicht mononucleosekranker Patienten beigegeben wurde, zeigten durchschnittlich nur 3.3% Immunoblasten am 3. Tag. In nur einer Kontrollkultur (ohne Serumzugabe) fand sich ein Hinweis auf eine spontane Transformation der Lymphocyten. Mononucleoseserum ist in der Lage, bei peripheren Lymphocyten in vitro eine Reaktion hervorzurufen, die der des bekannten Phytohämagglutinins vergleichbar, aber geringer ist. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um eine unspezifische Stimulation. Über das auslösende Agens im Serum der mononucleosekranken Patienten wird diskutiert.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- ANDREWS, L.L.
NIEDERMAN, J.C.
MILLER, G.
Prolonged oropharyngeal excretion of
Epstein Barr Virus after infections
mononucleosis
NEW ENGLAND J. MED. 1973, 5/288
- ASTALDI, G.
L. MASSIMO,
R. AIRO, P. MORI
Phytohaemagglutinin and Lymphocytes
from akute Lymphocytic Leukaemia
Lancet i, 1265 (1966).
- ASTALDI, G.
AIRO, R.
LISIND, T.
NOWELLI, E.
Antibodies to phytohaemagglutinin
Lancet ii, 502, 1966
- ASTALDI, A. Jr.
BIRSEN, Y.
GINSTO, M.
BURGIO, R.
MEROLLO, R.
ASTALDI, G.
Effekt of Groth Hormone on Lympho-
cyten
Transformation in Cell Culture
Blut XXVI, 74-81, 1973
- BAIN, B.
VAS R.M.
LOWENSTEIN, L.
The Development of Large Immature
Mononuclear Cells in Mixed Leuko-
cyte Cultures
Blood 23, 108, 1964
- BEGEMANN, H.
Klin. Hämatologie, Infektiöse Mono-
nucleose
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1970.
- BOCK, H.E.,
K. WILMS
W. WILMANS
Infektiöse Monocukleose - Enzyme der DNS -
Synthese in den Leukozyten und Reaktion
der Zellen auf PHA in der Kultur.
Dtsch.med.Wschr. 14, 748-753 (1970)
- BRITTINGER, G.
Die Lymphocyten-Kultur als in vitro
Modell immunolog. Vorgänge /S. 297
in: Der Lymphocyt von H. Pietschmann
Verlag der Wiener Medizinischen Akade-
mie, Wien, 1972.
- CHANG, R.S.
W.BLANKENSHIP,
H.D.GOLDEN et al:
Spontaneous and induced transformation
of human leukocytes in vitro.
BIRTH DEFERTS, ORIG.ART. SER.1973 9/1 40
- R.W.COLLUM
A.S.EVANS
J.C.NIEDERMAN
Seroepidemiologie studies of infectious
mononucleosis with EB Virus
New England J. Med. 279, 1121, 1968.
- E.H.COOPER
A.J.HALE
J.D.MILTON
The Proliferation of Infectious Mono-
nucleosis Lymphocytes in vitro.
Acta Hämat. 38, 19 (1967).

- W.DAMESHEK: Immunoblasts and Immunocytes.
An Attempt at a Functional Nomenclature.
Blood 21, 243 (1963).
- dito The EB Herpes-like Virus: Etiologie
Agent of Infections Mononucleosis
Blood 32, 387 (1968).
- H.DOWNEY, H. and Acute lymphadenosis compared with acute
MC KINLAY, C.A. lymphatic leukemia
Arch.intern.Med. 1, 82 (1923).
- DIEHL, V. Demonstration of a Herpes group virus
HENLE, W. in cultures of peripheral leukocytes
HENLE, G. from patients with infectious mononu-
KOHN, G. cleosis
J.Virol. 2, 663 (1968).
- EPSTEIN, M.A. Virus particles in Cultures
ACHONG, B.G. lymphoblasts from Burkitt's lymphoma
BARR, I.M. Lancet 1964 / I 702
- EVANS, A.F. INFECTIOUS MONONUCLEOSIS
in Hematology
Williams, Bentler, Allan, Rundles
Mc Graw-Hill-Book-Comp.
New York 1972. S. 843
- GAMBLE, C.N. The effect of phytohemagglutinin on the
primary antibody response of mice to rat
erythrocytes and human gamma globulin.
Intern. Arch. Allergy Appl. Immunol.29,470 1966
- GODDARD, V.R. Plant haemagglutinins with special
reference to a preparation from the navy
bean
J.Biol. Chem. 82, 447 (1929)
- GROPP, A. Untersuchungen zur Phytohämagglutinin-
FISCHER, R. stimulierten Umwandlung von menschl.
Blutlymphocyten zu blastenartigen Zellen.
Virchows Arch.path. Anat. 338, 64 (1964)
- HEILMEYER, L. Handbuch der gesamten Hämatologie
HITTMAYER, A. Band IV
Urban u. Schwarzenberg, München, 1963
- HENLE, W.G., Herpesviren mit besonderer Berücksichti-
HENLE, G. gung der Mononukleose.
75. Verh. Dtsch. Ges. Inn.Med. Wiesbaden,
1969, S. 184
- HOAGLAND, R.J. Infectious mononucleosis
Amer. J. med. Sci. 240, 21 (1960)
- HUBER, H. Grundlagen der Lymphocytenkultur
HUBER, C. Dtsch.med.Wschr. 91, 360, 1966
- BRAUNSTEINER, H. Klinische Bedeutung d. Lymphocytenkultur
Dtsch.med.Wschr., 91, 413, 1966
- dito

- INMAN, D.R.
COOPER, E.H. Elektronmikroskopie of human lymphocytes stimulated by phytohaemagglutinin
J.Cell. Biol. 19, 441 (1963)
- KLIMA, R.
BEYREDER, J. Lymphatische Reaktion als morphologisches Substrat bei entzündlichen Vorgängen und beim Lymphogranulom.
in: Begemann, Klin. Hämatologie, Thieme Verlag Stuttgart 1970, S. 532
- KOURILSKY, F.M.
LOVNIC, J.
LEVACHER, A. Phytohaemagglutinin and lymphocytes from akute leukaemia
Lancet ii 856 (1966)
- LAWRENCE, H.S.
VALENTINE, F.T. Transfer Faktor and other Mediators of Cellular Immunity
Lawrence u. Landy
Academic Press New York-London 1969
S. 647
- LING, N.R. Lymphocyte Stimulation
North-Holland Publishing Comp.
Amsterdam 1968, S. 265 u. 276
- LING, N.R.
HUSBAND, E.M. Specific and none specific stimulation of peripheral lymphocytes
Lancet i 363 / 1964
- MILLER, G.
WATSON, B.K.
BLACKLOW, N.R.
JAKOBSON, B.M. Mononucleosis with heterophil antibodies and EB virus infection. Aquisition by an elderly patient in hospital
AMER. J. MED. 1971 51 549
- MOSES, H. L.
GLADE, P. R.
KASEL, J. A.
ROSENTHAL, A.S.
HIRSHANT, Y.
CHESSTIN, L.N. Infectious mononucleosis detection of herpes like virus and reticular aggregates of small cytoplasmatic particles in continous lymphoid cell lines devired from peripheral blood
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 60, 489, 1968
- NIEDERMAN, J. C. Infectious mononucleosis:
review of studies on etiologie in
Proceeding International Infections mononucleosis symposiums.
American College Health Association
Evanston Ill, 9, 1968
- NOWELL P.C. PHYTOHAEMAGGLUTININ: An Initiator of Mitosis in Cultures of normal Human Leukocytes
Lancet Res. 20, 462, 1960
- NYFELD, A.: Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Mononucleosis infectiosa
Folia Haemat. Lpz. 47 (1932)
- OPPENHEIM, J.J.
LEVENTHA, B.G.
HERSH, E.M. The Transformation of Column-Purified Lymphocytes with Nonspecific and Specific Antigenic stimuli
J. Immunol. 101, 262 (1968)

- PAUL, J. R. Presence of Heterophile antibodies
BUNNEL, W. W. in infectious mononucleosis.
Amer. med. Sci. 183, 90 (1932)
- PEARMAIN and Spontaneous Mitoses of glandular
LYCETTE Fever Cells in short-term peripheral
Blood Cultures
The Lancet 16, 1072 (1963)
- PFEIFFER, E. Drüsenfieber
Jb. Kinderheilkunde 29, 257 (1889)
- PIETSCHMANN, H. Die Drüsenfieberzelle
u. ROLLEDER, A. aus: Der Lymphocyt, 1. Tagungsbericht
der Oesterreichischen Gesellschaft
für Hämatologie, Wien, 1972 S. 239
- SCHREK, R. Effekts of phytohämagglutinin on rat
RADINOWITZ, Y. and normal and leukemia human blood
cells
Proc. Soc. Ex. Biol. Med. 113, 191 (1963)
- SEIFERT, D. Die Wirkung von Serum bei infektiöser Mono-
nucleose auf menschl. Knochenmark in vitro. 1974
- SCHINZ, F.W. Cytochemische Untersuchungen an Blut- (Dissert.)
kulturen von Mononucleose-Patienten.
Dissertation 1974.
- SPRIGGS, A.J. Electron-microscopy of Türk cells
JERROME, D.W. Brit. J. Haemat. 13, 764 (1967)
- SPREAFICO, F. Suppression of primary and secondary
and LERNER, E.M. immune response of the mouse by phyto-
haemagglutinin.
J. Immunol. 98, 407 (1967)
- SPRUNT, T.P. Mononuclear leukocytosis in reaction to
and EVANS, E.A. acute infection "infectious mononucleosis"
Bull Hopkins Hosp. 31, 410 (1920).
- WISING, P.J. Successful transmission of infections
mononucleosis to man by transfusion of
heparinized blood
in: Hematology, Williams, Bentler, Esslew,
Rundles
MC GRAW-HILL BOOK COMP.
A Blakiston Publication New York 1972 S. 844

Ich danke Frau Prof. Dr. med. Irene Boll
für die Überlassung des Themas
und die gewährte Hilfe.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. H.J. Belitz
für seine freundliche Unterstützung bei der
statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungs-
gemeinschaft unterstützt.

LEBENS LAUF

Am 22.4.1949 wurde ich als Sohn des Architekten Karl-Richard Harnoss und seiner Ehefrau Gisela Harnoss geb. Ziegler in Berlin geboren.

Die Grundschule und das Humanistische Gymnasium besuchte ich in Berlin, wo ich am 8. Februar 1969 meine Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1970 begann ich das Studium an der Freien Universität Berlin.

Am 16. März 1971 bestand ich das Vorphysikum, am 24. August 1972 das Physikum. Die klinischen Semester beschloß ich im Februar 1976 mit dem Staatsexamen an der Freien Universität Berlin.

